



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO FOTO-FENTON Y PERÓXIDO/SOLAR EN EL  
INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE METANO USANDO COMO SUSTRATO LA  
VINAZA.**

**JUAN CAMILO LEÓN VIVAS**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE  
ESCUELA DE INGENIERÍA DE LOS RECURSOS  
NATURALES Y DEL MEDIO AMBIENTE  
CALI, COLOMBIA  
2015**



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO FOTO-FENTON Y PERÓXIDO/SOLAR EN EL INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE METANO USANDO COMO SUSTRATO LA VINAZA.**

**JUAN CAMILO LEÓN VIVAS**

**Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de: Ingeniero Sanitario y Ambiental.**

**Director (a):  
Ph.D. Janeth Sanabria**

**Codirector (a):  
M. Sc. Andres Betancourt**

**GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN PARA TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS - GAOX**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE  
ESCUELA DE INGENIERÍA DE LOS RECURSOS  
NATURALES Y DEL MEDIO AMBIENTE  
CALI, COLOMBIA  
2015**

## RESUMEN

En esta investigación se estudió la posibilidad de valoración de la vinaza mediante la producción de metano utilizando acoples entre procesos avanzados de oxidación PAOs y sistemas anaerobios.

Se utilizó vinaza de un ingenio azucarero del Valle del Cauca como sustrato. A este subproducto se le realizó la caracterización de sus propiedades fisicoquímicas, para posteriormente pretratarse con dos diferentes Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs), Fotofenton y  $H_2O_2$ /Solar, y se evaluó los cambios y la efectividad de los pre-tratamientos sobre las características de la vinaza. Posteriormente este efluente alimentó a dos reactores Filtros Anaerobios de Flujo Ascendente (FAFA), para su bioconversión a metano mediante la degradación de la vinaza por bacterias anaerobias. Los Inóculos utilizados provinieron de la Corporación de Abastecimientos del Valle de Cauca, CAVASA, ubicado en el municipio de Candelaria, Valle del Cauca y Sucroal S.A., ubicada en el municipio de Palmira, Valle del Cauca.

Se analizaron 2 acoples: vinaza pre-tratada con fotofenton, vinaza pre-tratada con peróxido/solar. A partir de los resultados obtenidos de pH, demanda química de oxígeno (DQO), ácidos grasos volátiles (AGV), fenoles, % de remoción de DQO, volumen de biogás, % de metano y volumen de metano.

El acople fotofenton fue altamente sensible a los cambios de carga orgánica en la alimentación y a la acumulación de sustancias inhibidoras en el sistema. A pesar que el sistema de tratamiento fue de alta tasa, el tiempo de retención hidráulica fue muy corto para lograr la vía metanogénica.

El acople  $H_2O_2$ /solar no es un proceso que beneficie la producción de metano. Por el contrario fue el que mayor inhibición metanogénica tuvo en el tratamiento biológico. Al igual que el proceso con fotofenton, se encontró que el acople fue altamente sensible a los cambios de carga orgánica en la alimentación y a la acumulación de sustancias inhibidoras en el sistema.

Se encontró que los acoples con los pretratamientos fotofenton y  $H_2O_2$ /solar mejoraron la biodegradabilidad del sustrato y las condiciones para la producción de metano, obteniendo porcentajes de remoción de 83,9 y 82%, y de aprovechamiento de 22,8 y 17,2% respectivamente. Se encontró que el mejor acople es el realizado con el pretratamiento Fotofenton - biológico.

**Palabras clave:** *Digestión anaerobia, reactor FAFA, Procesos avanzados de oxidación PAOs Vinaza.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>9</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>10</b>
3.1. OBJETIVO GENERAL .....	10
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>11</b>
<b>5. CONTEXTO.....</b>	<b>11</b>
<b>6. ANTECEDENTES.....</b>	<b>12</b>
6.1. Fotofenton y peróxido/solar en la vinaza.....	12
6.2. Tratamientos anaerobios aplicados.....	13
6.3. Sistemas acoplados de PAOs con tratamientos biológicos.....	14
<b>7. MARCO TEORICO .....</b>	<b>15</b>
7.1. Producción de Vinazas.....	15
7.2. Tratamientos y usos de la vinaza.....	18
7.3. Digestión anaeróbica.....	20
7.4. Las fases de transformación en la DA.....	20
7.4.1. Desintegración e hidrólisis .....	21
7.4.2. Acidogénesis y Acetogénesis .....	21
7.4.3. Metanogénesis.....	21
7.5. Inhibidores de la digestión anaerobia.....	22
7.5.1. Amoníaco.....	22
7.5.2. Cationes y metales pesados .....	23
7.5.3. Hidrógeno .....	23
7.5.4. Sulfuro.....	23
7.5.5. Fenoles .....	23
7.6. Procesos de avanzados de oxidación.....	23
7.6.1. FOTOFENTON .....	25
7.6.2. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /SOLAR.....	25
<b>8. METODOLOGÍA.....</b>	<b>26</b>
8.1. Recolección de vinaza, caracterización y manejo.....	26
8.1.1. Pre-tratamientos .....	26
8.2. Selección del inóculo.....	27

8.3.	Montaje sistema biológico .....	27
8.3.1.	Operación reactores FAFA. ....	29
8.3.2.	Aclimatación.....	29
8.3.3.	Fases 1 y 2. ....	29
8.4.	Variables de seguimiento .....	29
8.4.1.	Demanda química de oxígeno (Método micro o reflujo cerrado). ....	30
8.4.2.	Medición de Biomasa (Método FISH) .....	31
8.4.3.	Análisis Estadístico .....	31
8.4.4.	Cuantificación Metano (Por cromatografía de gases) .....	31
8.4.5.	Cuantificación de Ácidos Orgánicos (Método de Valoración (APHA, 1999) .....	31
8.5.	Gráficos de cajas (box-plot).....	31
8.6.	Mediana y desviación estándar.....	31
<b>9.</b>	<b>RESULTADOS Y ANÁLISIS .....</b>	<b>33</b>
9.1.	Aclimatación.....	33
9.2.	Operación de Reactores .....	34
9.2.1.	Cuantificación de Biomasa y Tasa de consumo de sustrato.....	36
9.2.2.	Comportamiento de la concentración de AGV's .....	38
9.2.3.	Producción de CH <sub>4</sub> .....	40
9.2.4.	Determinación Del mejor pretratamiento en términos de producción de metano. ....	43
<b>10.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>11.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>12.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>48</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Antecedentes de fotofenton y peróxido/solar de vinaza como tratamiento final.....	12
Tabla 2. Antecedentes de tratamientos aplicados y valorización de vinaza.....	13
Tabla 3. Antecedentes de sistemas PAOs con tratamientos biológicos. ....	14
Tabla 4. Comparación de características contaminantes de la vinaza diluida (V10) y concentrada al 60% (V60).....	16
Tabla 5. Materia prima utilizada en la producción de bioetanol. ....	16
Tabla 6. Compuestos Orgánicos de la vinaza al 60% SST.....	18
Tabla 7. Resumen usos Actuales de la vinaza .....	19
Tabla 8. Propiedades fisicoquímicas de la vinaza cruda. ....	26
Tabla 9. Diseño experimental para los tratamientos con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	27
Tabla 10. Condiciones operacionales de los reactores FAFA.....	28
Tabla 11. Carga orgánica utilizada en los reactores (Kg.m <sup>-3</sup> ) .....	29
Tabla 12. Velocidad de Carga Orgánica en los reactores (Kg.m <sup>-3</sup> .d <sup>-1</sup> ).....	29
Tabla 13. Variables y frecuencia de medición.....	30
Tabla 14. Parámetros fisicoquímicos de la vinaza a evaluar durante los tratamientos. ....	30
Tabla 15. Resultados fase de aclimatación.....	33
Tabla 16. Resultados del Coeficiente de correlación (%RDQO-VB-VM) .....	34
Tabla 17. Biomasa en número de células*mL <sup>-1</sup> .....	36
Tabla 18. Tasa de consumo de sustrato para R1, R2 y RC.....	37
Tabla 19. Rangos de pH de los reactores.....	39
Tabla 20. Coeficiente de correlación de Spearman (AGVs/VB/VM) .....	39
Tabla 21. Resultados de coeficiente de correlación.....	42
Tabla 22. Variables para selección del mejor pretratamiento. ....	43
Tabla 23. Valores diagrama de cajas volumen de CH <sub>4</sub> . ....	44

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Proceso de producción de etanol. ....	15
Figura 2. Transformación de la materia orgánica hacia metano durante las cuatro etapas de la digestión anaerobia 1. Bacterias Hidrolíticas y acidogénicas; 2. Bacterias Acetogénicas; 3. Bacterias Homoacetogénicas; 4 Archaeas Metanogénicas Hidrogenofilicas; 5. Archaeas Metanogénicas Acetoclásticas. Fuente: (Gil Molano et al., 2012). ....	22
Figura 3. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación. ....	24
Figura 4. Cámara de simulación solar SUNTEST – XLS. ....	26
Figura 5. Esquema de Reactor y separador GLS ....	28
Figura 6. Montaje reactores FAFA. ....	29
Figura 7. Espectrofotómetro utilizado en los análisis. ....	30
Figura 8. Eficiencia de consumo de sustrato para los reactores R1, R2 y RC ....	35
Figura 9. Volumen de biogás producido para R1, R2 y RC ....	35
Figura 10. Comportamiento de la Concentración de AGVs para R1, R2 y RC ....	38
Figura 11. Volumen de metano producido para R1, R2 y RC ....	40
Figura 12. %DQO transformada a CH <sub>4</sub> para R1, R2 y RC ....	41
Figura 13. Diagramas de cajas volumen de CH <sub>4</sub> Fotofenton, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Solar y Control. ....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGV	= Ácidos grasos volátiles
AARR	= Azúcares reductoras
ATP	= Trifosfato de adenosina
B <sub>inicial</sub>	= Biomasa Inicial
CH <sub>4</sub>	= Metano
DBO	= Demanda biológica de oxígeno
DQO	= Demanda química de oxígeno
DA	= Digestión anaerobia
L	= Litro
mg	= miligramo
PAOs	= Procesos Avanzados de Oxidación
pH	= Potencial de hidrogeno
OH <sup>-</sup>	= Radical Hidroxilo
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Peróxido de Hidrógeno
%CH <sub>4</sub>	= Porcentaje de concentración de gas metano
%RDQO	= Porcentaje de remoción de DQO
VB	= Volumen de biogás
VM	= Volumen de gas metano
TRH	= Tiempo de Retención Hidráulico

## 1. INTRODUCCIÓN

La vinaza es un subproducto líquido de la producción del etanol, su producción puede oscilar entre 10 a 15L de vinaza por litro de etanol, tiene una carga orgánica elevada con valores de DQO y DBO<sub>5</sub> de 116000 y 41200 ppm respectivamente; contiene un porcentaje de sólidos de 10% p/p. Su naturaleza tóxica y recalcitrante hace necesario su tratamiento antes de su disposición (García, 2006).

Los tratamientos convencionales aplicados a las vinazas son: deshidratación e incineración con alto costo energético, acondicionamiento de suelos y fertirrigación en cultivos de caña. Estos últimos afectan a largo plazo el balance natural de las sales en el suelo y por ende la producción de caña (CENIAÑA, 2009). Sin embargo estas alternativas son poco factibles económica y ambientalmente a largo plazo debido a la creciente demanda de etanol y por ende los crecientes niveles de producción de vinaza.

Los Procesos Avanzados de Oxidación PAOs son procesos emergentes los cuales se caracterizan por generar degradación no selectiva de la materia orgánica en diferentes aguas residuales domésticas e industriales.

Por otro lado, la digestión anaerobia presenta las mejores cualidades de tratamiento biológico de efluentes con alta carga orgánica ( $QO \geq 1000 \text{mgL}^{-1}$ ) a bajos costos de operación y la generación de metano como una adicionalidad de gran valor (Chernicharo, 2007).

La principal desventaja de los tratamientos biológicos es la toxicidad a la que se enfrentan con estas aguas residuales industriales del proceso de producción de etanol, las cuales son altamente inhibitoras de su metabolismo por la presencia de sustancias como fenoles, melanoidinas, y alto contenido de sales orgánicas (Gil, 2012).

Las alternativas existentes demuestran pocos desarrollos en procesos PAOs-Biológicos acoplados que permitan realizar valoración de este subproducto para solucionar el problema de contaminación generado por la producción de vinazas y además de valor agregado a este subproducto.

El alcance de la investigación se centró en encontrar el mejor acople continuo PAOs-Biológico, que generara el mejor aprovechamiento de vinaza en términos de obtención de metano a escala de laboratorio.

La investigación hizo parte del proyecto “ARRANQUE DE UNA PLANTA PILOTO PARA OBTENCIÓN DE METANO COMO BIOCOMBUSTIBLE A PARTIR DE VINAZAS EN UN ACOUPLE PAOs BIOLÓGICO”, del Grupo de Investigación de Procesos Avanzados Para Tratamientos Biológicos y Químicos (GAOX) financiado por la Universidad del Valle.



## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La escasez de combustible fósil ha puesto en peligro la actividad económica global. De esta manera se han emprendido diferentes iniciativas a nivel mundial de producción de combustibles de fuentes renovables y energías alternativas (Commission, 2005; Biomass, 2008). En Colombia se han implementado diferentes estrategias para incentivar la producción de biocombustibles con los criterios de sostenibilidad financiera y abastecimiento energético. En consecuencia, se han construido cinco destilerías de alcohol carburante de caña de azúcar, con una producción de  $1'050.000 \text{ L.d}^{-1}$ , con la finalidad de suplir la necesidad actual de Colombia ( $1.370.000 \text{ L.d}^{-1}$ ). Hoy la mezcla de gasolina con alcohol carburante es del 10%, y a partir de la aprobación del Decreto 1135 de 2009, se espera aumentar la mezcla hasta un 20% y contar con vehículos flex que soporten hasta un 100% de alcohol carburante para el año 2016 (ASOCAÑA, 2010).

En el valle del cauca los ingenios azucareros han implementado una tecnología de la India, la cual incluye proceso de concentración de vinaza por evaporación en una y dos etapas, para luego utilizarse en la producción de compost y fertilizantes líquidos. No obstante esta genera elevado costo energético para estas industrias (Rodríguez, 2009).

La vinaza presenta además altos contenidos de sustancias inorgánicas como nitrógeno, potasio, fosfatos, calcio y sulfatos (Mohana & *et al*, 2007; Acharya & *et al*, 2008) y otros compuestos como fenoles, melanoidinas, antocianinas y taninos (Kumar & *et al*, 1997; Pandey *et al*, 2003). Esta complejidad química dificulta el tratamiento y disposición de la vinaza.

Los procesos avanzados de oxidación (PAOs), representan una alternativa de descontaminación, siendo capaces en algunos casos de mineralizar por completo los contaminantes (Blesa, 2001). Por otra parte se encuentra la digestión anaerobia (DA), es una opción tecnológica atractiva para el aprovechamiento de vinazas, como productor de energía (biogás) de uso final (Ribeiro y Silva, 2009). La producción de metano en la DA puede alcanzar valores de 0.3 a 0.5  $\text{m}^3$  de metano por Kg de DQO (Grisi *et al*, 2011; Tewari *et al*, 2007). No obstante, la eficiencia de la DA, se asocia con el diseño y operación del reactor biológico, la ecología bacteriana y la presencia de inhibidores en el sustrato (Grisi *et al*, 2011).

La presencia de agentes tóxicos como: compuestos fenólicos (Kumar *et al*, 1997; Pandey *et al*, 2003) presente en la vinaza es el principal problema ya que inhiben los procesos biológicos y por tanto la producción de biogás, sin embargo los procesos avanzados de oxidación como pre-tratamiento pueden ser utilizados para la minimización de estos agentes y poder hacer una recuperación adecuada de los elementos de valor en la vinaza.

La investigación busca encontrar una solución tecnológica que permita el aprovechamiento de estas vinazas de característica tóxica para microorganismos anaerobios, a través del acople de un sistema PAOs-Biológico anaerobio para obtener productos de valor agregado como metano.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la producción biológica de metano a partir de dos sistemas en continuo con Vinaza diluida, pre-tratada con Fotofenton y peróxido/solar.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

1. Evaluar la influencia del pretratamiento de la vinaza con fotofenton sobre la producción de metano usando un reactor anaerobio FAFA.
2. Evaluar la influencia del pretratamiento de la vinaza con peróxido/SOLAR sobre la producción de metano usando un reactor anaerobio FAFA.
3. Determinar a partir de cual pre-tratamiento de vinaza se obtiene la mayor producción de metano.

#### **4. HIPÓTESIS**

El acople de los PAO y los sistemas biológicos anaerobios permite aumentar la eficiencia de la digestión transformando la vinaza en subproductos de valor agregado y disminuyendo su impacto en el medio ambiente.

#### **5. CONTEXTO.**

La producción de etanol ha aumentado en los últimos años. En el 2011 la producción mundial fue 100.000 millones de litros que representa el 81% de los biocombustibles a nivel mundial. Los biocombustibles representan el 1.7% del consumo energético mundial y se espera que lleguen al 20% (Romero, 2012).

Brasil es el segundo productor de etanol y su producción se hace a base de caña de azúcar, el gobierno brasileño implementó una mezcla del 10 al 20% en su combustible como estrategia para reemplazar la gasolina. Se considera que cuenta con la tecnología más eficiente para producir etanol y tiene capacidad para producir hasta 9.5 millones de litros para el 2012 lo que generaría una producción de vinazas de 123.5 millones de litros con una relación de 1:13. Estados Unidos con más del 50% de la producción mundial en el 2011, es actualmente el mayor productor de etanol con una producción que se ha incrementado de 4 billones de litros en 1996 a 14 billones de litros en 2006. En América Latina y el Caribe, han considerado a Brasil como modelo, y junto con el alza del precio del petróleo ha generado mayor interés por la promoción de la industria de los biocombustibles. (Duffey, 2010).

En Colombia desde el año 2001 el gobierno ha promovido una política orientada a promover la producción de biocombustibles (alcohol carburante). El mercado del etanol se inició en 2002 gracias a la Ley 693 de 2001 que establecía una mezcla obligatoria, la cual debía contener un 10% de alcohol carburante. Las empresas manufactureras que usan caña como materia prima empezaron a producir etanol a partir de año 2005, convirtiendo a Colombia en el segundo país de Latinoamérica en producir etanol con una producción anual proyectada de 350 millones de litros (Romero, 2012). Se estima que por una tonelada de caña destinada para la producción de azúcar se pueden obtener 100 kg de azúcar, alrededor de 45 kg de melaza que pueden producir 20 Litros de bioetanol y entre 50 y 260 Litros de vinaza (CEPAL - FAO - CGEE - BNDES, 2008). La producción de etanol se lleva a cabo principalmente en los departamentos del Cauca, Valle y Risaralda (asocaña, 2012).

## 6. ANTECEDENTES

### 6.1. Fotofenton y peróxido/solar en la vinaza.

Las tecnologías avanzadas de oxidación se están consolidando como una de las más eficaces y versátiles opciones en el tratamiento de efluentes contaminados, especialmente en aguas de origen industrial.

Hay gran variedad de tratamientos avanzados de oxidación (fotocatalíticos), los más comunes son la combinación UV y peróxido (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el reactivo Fenton (Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el Foto-Fenton, antecedentes de estos se muestran en la tabla 1 (Sanz, 2011)-

**Tabla 1. Antecedentes de fotofenton y peróxido/solar de vinaza como tratamiento final.**

titulo	Autor	Conclusiones sobre la fotofenton y H2O2/ SOLAR de vinaza
Fenton y foto-Fenton tratamiento de efluentes destilería y la optimización de las condiciones de tratamiento con la metodología de superficie de respuesta	(Mojtaba Hadavifar, Ali Akbar Zinatizadeh, Habibollah Younesi <sup>1</sup> and Maedeh Galehdar, 2010)	<ul style="list-style-type: none"> <li>El estudio demostró que el proceso de foto-fenton favoreció la reacción de oxidación, encontrando una eficiencia de eliminación de 73% de DQO.</li> <li>Los términos del modelo más significativos en el proceso fueron la DQO inicial y el pH.</li> </ul>
Evaluación del proceso fotofenton como pretratamiento para la obtención de biogas a partir de vinazas	(Sarria, 2012)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se logró mejorar las condiciones de la vinaza para la producción biogás mediante la aplicación de foto-fenton.</li> <li>Las mejores condiciones fueron a menor concentración de peróxido (0.2M) y dilución de vinaza más baja del 20%</li> </ul>
Fenton and photo-Fenton treatment of distillery effluent and optimization of treatment conditions with response surface methodology	Hadavifar, Zinatizadeh Younesi* & Maedeh Galehdar 2010.	<ul style="list-style-type: none"> <li>La eficiencia de remoción varió de 18 a 97% para el proceso de foto-Fenton,</li> <li>El valor R<sup>2</sup> de los modelos (R<sub>2</sub>&gt; 0,97) muestra un alto grado de correlación entre los parámetros.</li> </ul>

(Hadavifar, Zinatadeh, Younesi, & Galehdar, 2010)

## 6.2. Tratamientos anaerobios aplicados

Para la vinaza se ha optado por tratamientos y reusos, sistemas acoplados, acondicionamiento de suelos, riego y fertilización; la disposición en los suelos, como los mostrados en la tabla 2 (Dierolf et al, 2007).

**Tabla 2. Antecedentes de tratamientos aplicados y valorización de vinaza.**

titulo	Autor	Síntesis
Anaerobic thermophilic bed treatment of industrial wastewater: effect of f:m relationship	(Pérez, Romero, & Sales, 1999)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unidad experimental: reactor de lecho fluidizado, con medio de soporte (carbón activado)</li> <li>• Temperatura de operación: 55 °C</li> <li>• Objetivo del estudio: producir metano.</li> <li>• Velocidad de carga orgánica: 32 kg COD/m<sup>3</sup>.d</li> <li>• Relación de sustrato y biomasa: 0,55 kg DQO / kg SV*d-1</li> <li>• TRH 2,55 h; Tiempo de experimentación: 94 días Resultado: Producción volumétrica de CH<sub>4</sub> = 1.08m<sup>3</sup> / (m<sup>3</sup>.d)</li> </ul>
Biodegradation of beet molasses vinasse by a mixed culture of micro organisms: Effect of aeration conditions and pH control	(Lutoslawski, Ryznar-Luty, Cibis, Krzywonos, & Miskiewicz, 2011)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unidad experimental: Reactor aerobio, escala laboratorio</li> <li>• El objetivo del estudio: Optimizar la temperatura, el pH y el estado de oxigenación para la biodegradación aerobia de vinazas utilizando un cultivo mixto de bacterias termo - y mesófilas del género Bacillus.</li> <li>• Resultados: se obtuvo una reducción de DQO de 85,37 % a 58°C, una velocidad de agitación de 900 rpm, el pH 8,35 durante todo el proceso.</li> </ul>
Anaerobic Treatment of distillery spent wash – a study on upflow fixed film bioreactor.	(Acharya, B.K., Mohana, S & Madamwar, D., 2008)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción del 64% de la DQO</li> <li>• Producción de biogás de 7.2 m<sup>3</sup> d-1 alcanzando un alto rendimiento de metano.</li> </ul>
Biodegradation and decolourization of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium.	(Mohana, Desai, & Madamwar, 2007)(Sirianuntapiboon, Phothilangka, & Ohmomo, 2004)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remoción de DQO 65,2%, DBO5, 82,8%; y melanoidinas 50,2% en un TRH 7 días y en un reactor anaerobio.</li> <li>• Remoción de color: 67% en un TRH 24 h</li> <li>• Remoción de DQO: 51% en un TRH 72 horas</li> </ul>

### 6.3. Sistemas acoplados de PAOs con tratamientos biológicos.

Métodos híbridos a través de la combinación de dos o más procesos de oxidación también se está convirtiendo en popular para el tratamiento de aguas residuales de destilería. Estos procesos generan condiciones de oxidación complementarios y también ayudan a contrarrestar la inconvenientes asociados con los métodos individuales (Sangave & Pandit, 2006).

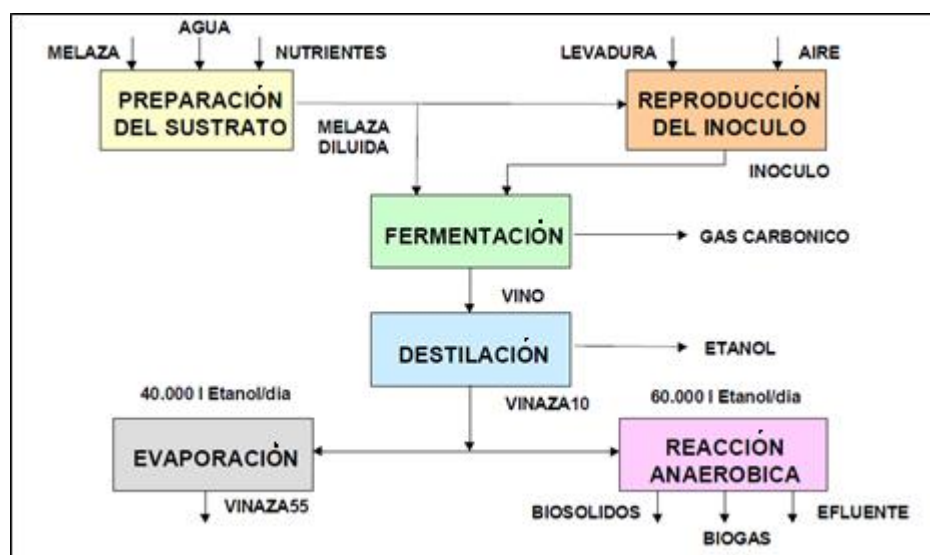
**Tabla 3 Antecedentes de sistemas PAOs con tratamientos biológicos.**

titulo	Autor	Conclusiones sobre los sistemas PAOs- Biologicos
Fenton y foto-Fenton tratamiento de efluentes destilería y la optimización de las condiciones de tratamiento con la metodología de superficie de respuesta	(Mojtaba Hadavifar, Ali Akbar Zinatizadeh, Habibollah Younesi <sup>1</sup> and Maedeh Galehdar <sup>1</sup> ,2010)	<ul style="list-style-type: none"> <li>El estudio demostró que el proceso de foto-fenton favoreció la reacción de oxidación, encontrando una eficiencia de eliminación de 73%.</li> <li>Los términos del modelo más significativos en el proceso fueron la DQO inicial y el pH.</li> </ul>
Evaluación de la producción de metano en la digestión anaerobia de vinazas pretratadas con un proceso de oxidación avanzada	(Gil Molano, I. J. Sanabria Gómez, and S. Baena, 2012.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>El mejor pretratamiento de fotofenton aplicado en vinaza diluida, tuvo una concentración de <math>H_2O_2</math> de <math>0,5 \text{ mol L}^{-1}</math> y una relación <math>H_2O_2/Fe^{+3}</math> de 20.</li> <li>La producción máxima de metano obtenida fue de 19,5 mL (CNTP). Este</li> <li>Este pretratamiento aumento la producción de metano en un 66%.</li> <li>Inóculos de alta organización microbológica (IG - granular) tienen una mayor resistencia a esta inhibición.</li> <li>La mezcla de inóculos (IGV) presentó buena estabilidad y resistencia, estas.</li> </ul>
Una integración de digestión anaerobio y UV tratamiento fotocatalitico de aguas residuales de la destilería.	(Seth Apolloa, Maurice S. Onyangob, Aoyi Ochieng 2007.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>La fotodegradacion puede ser un tratamiento para la eliminación complete de compuestos biorecalcitrantes y color.</li> <li>La fotodegradacion reduce las DQO y por ende las eficiencia de producción de biogás.</li> </ul>

## 7. MARCO TEORICO

### 7.1. Producción de Vinazas.

La vinaza es un subproducto líquido de la generación de bioetanol, que aparece después de la destilación de los vinos con una concentración de sólidos totales alrededor del 10%. Este subproducto se genera a partir de diferentes materias primas siendo Latinoamérica donde se produce principalmente a partir de la caña de azúcar. En la Figura 1 se presenta un diagrama de flujo general de la producción del biocombustible, acoplando digestión anaerobia y evaporación que es el método más utilizado en Colombia como tratamiento a la vinaza.



**Figura 1 Proceso de producción de etanol.**

Fuente:(Quintero *et al*, 2006)

La composición química de la vinaza, resultante de la producción de bioetanol, ya sea por destilación o por fermentación directa, depende de las características del suelo, de la variedad o tipo de materia prima, el período de la cosecha y el proceso industrial usado para la producción de etanol(Tecnicaña., 2005). Este efluente se caracteriza por el alto contenido de materia orgánica, principalmente ácidos orgánicos, sustancias reductoras, glicerol, altas concentraciones de potasio, óxidos de calcio y magnesio, iones sulfato, cloruros, bajas concentraciones de fósforo y nitrógeno. La vinaza de la caña es básicamente deficiente en nitrógeno usualmente: 0.2% - 1.5%, y posee concentraciones importantes de hierro, sodio, azufre, manganeso, cobre, zinc y metales pesados, además presenta un alto contenido de sólidos en suspensión, sustancias orgánicas insolubles y volátiles; células y metabólicos de levaduras, altos niveles de carga orgánica (DQO 50 a 150 g de O<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>), alta demanda bioquímica de oxígeno (de 30 a 40 g DBO<sub>5</sub>/L), concentraciones relativamente altas de sales minerales que se reflejan en una alta conductividad electrolítica (250-300 dS m<sup>-1</sup>), cenizas y una temperatura entre 70 y 80°C en el momento de producción(Arce Sarria, 2012; Fernandes, 2008; Gómez, 2008). (Ver Tabla 4 al 6).

Por otra parte las características fisicoquímicas, tales como: el color café oscuro, es atribuido a la presencia de diferentes polímeros entre ellos melanoidinas, caramelos, antocianinas, taninos y diferentes compuestos xenobióticos. Los valores de luminancia están alrededor del 54,4 % aún a diluciones de 1/20. Las melanoidinas particularmente son polímeros de alto peso molecular formados al reaccionar, en condiciones

alcalinas, azúcares y aminoácidos (reacción de Maillard), o de manera más general, por la reacción entre los grupos amino y carboxilo de las sustancias orgánicas. Esto le aporta a la vinaza propiedades antioxidantes y tóxicas para los microorganismos (Pérez *et al*, 2005). El pH se mantiene en un rango de 3,5 a 5,0 unidades y posee además altos niveles de turbiedad lo cual se atribuye a la presencia de ácidos orgánicos (por ejemplo ácido sulfúrico libre utilizado para la fermentación) y la elevada carga de materia orgánica. Se considera que la elevada concentración de DBO es debido a la presencia de azúcares que no alcanzan a ser convertidos en alcohol, carbohidratos no fermentados, levaduras muertas y una variedad de compuestos inorgánicos (García & Ho, 2012)

Estas características la convierten en un compuesto contaminante si se dispone directamente a un cuerpo de agua, ya que los valores de DQO y DBO<sub>5</sub> para un contenido de sólidos del 10% m/m son 116 000 y 41 200 ppm respectivamente, lo cual hace necesario su tratamiento antes de ser eliminado. (Tecnicaña., 2005)

**Tabla 4 Comparación de características contaminantes de la vinaza diluida (V10) y concentrada al 60% (V60).**

Características	Unidades	Concentración	
		V10	V60
DQO	mg/l	116000	590000
DBO	mg/l	41200	240000
PH	----	4,5	4,5
SST	mg/l	8990	53900
SSV	mg/l	7100	--
Sulfatos (como SO <sub>4</sub> )	mg/l	5626	33750
Fosforo (como P)	mg/l	97	580

Fuente: laboratorio planta de control ambiental sucromiles. (Tecnicaña., 2005)

**Tabla 5. Materia prima utilizada en la producción de bioetanol.**

Propiedad	Unidad	Jugo	Melaza	Mixto de jugo y melaza
N	(Kg/m <sup>3</sup> )	0,28	0,77	0,46
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	(Kg/m <sup>3</sup> )	0,20	0,19	0,24
K <sub>2</sub> O	(Kg/m <sup>3</sup> )	1,47	6,00	3,6
CaO	(Kg/m <sup>3</sup> )	0,46	2,45	1,18
MgO	(Kg/m <sup>3</sup> )	0,29	1,04	0,53
SO <sub>4</sub>	(Kg/m <sup>3</sup> )	1,32	3,73	2,67
Materia Orgánica	(Kg/m <sup>3</sup> )	23,44	52,04	32,63
Fe	(Kg/m <sup>3</sup> )	69	80	78
Cu	(Kg/m <sup>3</sup> )	7	5	21
Zn	(Kg/m <sup>3</sup> )	2	3	19
Mn	(Kg/m <sup>3</sup> )	7	8	6
pH	(Und)	3,7	4,4	4,1

Fuente: (García & Rojas, 2006)





Tabla 6. Compuestos Orgánicos de la vinaza al 60% SST.

Compuesto	Concentración
No Volátiles	(%m/m)
Glicerol	2,7
Ácido aconítico	1,76
Sorbitol	1,39
Fructosa + Glucosa	1,3
Ácido Láctico	1,28
Ácido cítrico	0,8
Ácido 2,4 dihidroxipentanedioico	0,71
Ácido quínico	0,71
Trehalosa	0,31
Ácido málico	0,23
Sucrosa	0,21
2,3 Butanodiol	0,21
Ácido succínico	0,07
Ácido glicólico	0,06
Fenoles	(mg/Kg)
Ácido Piroglutámico	165
Ácido Itacónico	93
Ácido fumárico	93
3-metoxi-4-hidroxifenilglicerol	54
Ácido p-hidroxibenzoico	48
Ácido palmítico	34

Fuente: (Tecnicaña, 2005)

## 7.2. Tratamientos y usos de la vinaza

Por tratarse de un subproducto de la obtención de etanol, la vinaza se trata como residuo líquido industrial, de ahí que algunos de sus usos tienen su origen como alternativas de disposición final más que como alternativas de aprovechamiento. (Tecnicaña, 2005)

Los estudios recientes reportan que hay diferentes tipos de tratamiento de vinaza, tanto físico-químicos como biológicos. La separación mecánica permite recuperar sólidos suspendidos que contienen levaduras y otros componentes, estos componentes recuperados pueden ser secados y ser vendidos como pienso animal de alto valor nutricional. Los tratamientos posteriores a esta separación mecánica se ven favorecidos por este paso previo. La evaporación de vinaza es empleada como reductor importante de los volúmenes producidos, sin embargo esta concentración tiene una demanda energética equivalente al 10% de la energía contenida en el alcohol destilado. Por otro lado, la vinaza concentrada proveniente de mieles de caña, es vendida como pienso animal solo que, a diferencia de la separación mecánica, este tiene un bajo nivel nutritivo debido a sus efectos laxantes por el alto contenido de potasio (Gil Molano, Sanabria Gómez, & Baena, 2012) (Ver Tabla 7).

**Tabla 7. Resumen usos Actuales de la vinaza**

Usos	Aportes	Posibles efectos	Posibles Implicaciones de Uso
Fertilización (Es el uso más ampliamente conocido)	1- Materia Orgánica, 2-Potasio, 3-Calcio, 4- Sulfatos, 5- Micronutrientes	Fomenta la producción de algunas poblaciones de microorganismos en el suelo, Incrementa la concentración de algunos los nutrientes disponibles	A largo plazo afecta el equilibrio ecológico del suelo, si la vinaza no tiene un pretratamiento
Sustrato para Compost		Favorece el compost, al servir como fuente de nutrientes a los microorganismos que compostan	El exceso de Vinaza en la mezcla da lugar detención del proceso de compostaje debido la alta carga orgánica que interfiere negativamente en la degradación del material vegetal.
Producción de biogás y Biosólidos		Generan biogás con contenido utilizable de metano y produce un efluente y biosólido más estable y posible de asimilación por las plantas en riego o compost.	Se deben controlar las concentraciones de ácido sulfhídrico ya que producen malos olores y deteriora las tuberías de recuperación del gas. Los altos costos del sistema también son una limitante.
Medio de cultivo		Promueve el crecimiento de levaduras cuando es suplementada con Urea y sacarosa	
Suplemento Alimenticio	1- Proteína 5,68% 2- Energía neta 0,88 M cal/Kg 3- Sales minerales	Permite sustituir parte de la melaza usada en la suplementación de ganado bovino, porcino y conejos.	En bovinos dosis de Potasio superiores a 1.5 kg/animal causan efectos laxantes.
Incineración	Poder Calorífico: 1871cal/g Limite Superior y 1621 cal/g Limite Inferior	Genera energía térmica	Los altos costos para este uso limitan su implementación
Otros	Agente plastificante de concretos reforzados. Fabricación de ladrillos. Materia prima para obtener sulfatos de cloruro y potasio, potasa y carbonato de sodio, ácido glutámico y glutamina vía fermentativa. Riego de caminos para compactar y eliminar el exceso de polvo.		

Fuente: (Tecnicaña, 2005)

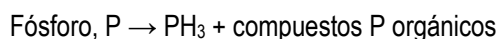
### 7.3. Digestión anaeróbica.

La (DA) es un proceso biológico en ausencia de oxígeno libre o molecular, capaz de transformar materia orgánica en forma sólida o soluble, con el propósito de estabilizar los compuestos orgánicos. Metano y dióxido de carbono son los principales productos finales, y cantidades menores de  $N_2$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $H_2$ . Algunas razones para la utilización de los procesos anaerobios con residuos líquidos y sólidos, mejor denominados subproductos industriales son: (a) La velocidad de carga orgánica a la que operan es mayor que en los sistemas aeróbicos; (b) Los productos finales son útiles y estables, ej. los lodos, que pueden ser utilizados en la agricultura como enmienda para compost y el biogás como biocombustible, (c) El efluente de este proceso alcanza entre un 60 a 90% de remoción de la materia orgánica y (d) hay una reducción de sólidos debido a que la tasa de generación de biomasa es mucho más lenta comparada con un sistema biológico aerobio (Loehr, 2012).

La materia orgánica en la DA, es la fuente de energía y carbono, para que las bacterias generen nueva biomasa. El proceso de transformación química de la materia orgánica a productos más simples, se denomina "Catabolismo" y el proceso de transformación a nuevo material celular (crecimiento de biomasa) se denomina "Anabolismo". Ambos procesos ocurre simultáneos ya que es totalmente dependiente el uno del otro. Se espera que el proceso en un reactor anaerobio, tenga un rendimiento en catabolismo del 97% y 3% en el anabolismo. Por otra parte el proceso fermentativo de la DA está acompañado por diferentes especies del dominio bacteria, pero en la metanogénesis solo intervienen organismos del dominio *Archaea*. Aunque todas las fases de transformación pertenecen a una cinética de primer orden, las velocidades de reacción son diferentes para cada una de las fases de la DA, y las comunidades presentan diferentes rangos de sensibilidad a cada compuesto intermedio como inhibidor (Gil, et al., 2012).

En la respiración anaerobia los microorganismos utilizan receptores de electrones que tienen un potencial más alto de reducción que el oxígeno. Esto significa que la respiración es menos eficiente y bajo estas condiciones el ciclo de Krebs sólo opera en forma parcial. La producción de ATP varía según los organismos y la vía utilizada y siempre es menor que en la respiración aerobia, lo que conduce generalmente a tasas de crecimiento más lentas que en los sistemas aerobios (Tortora *et al*, 2007).

Las reacciones de oxidación y reducción que se producen en la transformación anaeróbica de materia orgánica, son los siguientes (Baez-smith & Consulting, 2006):



La relación C/N adecuada para el desarrollo de las bacterias en el proceso de digestión debe estar comprendida entre 15/1 y 45/1. Valores inferiores disminuyen la velocidad de reacción y valores superiores crean problemas de inhibición. Para el fósforo la relación C/P óptima es 15/1 (Flotats *et al*, 1997).

### 7.4. Las fases de transformación en la DA

El producto final del proceso de digestión anaerobia capaz de valorizar el potencial energético del biogás es el metano. La calidad del biogás obtenido en el proceso de digestión es mejor cuanto mayor sea el porcentaje de metano en la mezcla, el cual oscila entre 60 y 92% de  $\text{CH}_4$  (Agencia Andaluza de Energía, 2011). La máxima relación de asimilación de materia orgánica transformada en metano producible es de 0,35  $\text{m}^3$

CH<sub>4</sub>/Kg DQO eliminada, bajo condiciones normales de presión y temperatura (Flotats *et al*,1997). Las fases de transformación de la DA son: Desintegración e hidrólisis, Acidogénesis, Acetogénesis y Metanogénesis. Llavador, 2005 define de la siguiente forma cada una de las fases: (Ver Figura 2). (Ortega 2006)

#### **7.4.1. Desintegración e hidrólisis**

La desintegración e hidrólisis son procesos extracelulares y biológicos, que producen la ruptura de compuestos orgánicos de alto peso molecular y la solubilización de materia orgánica compleja, formando sustratos solubles. Los productos de la degradación de carbohidratos, proteínas y lípidos son monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga respectivamente. La hidrólisis enzimática completa es un proceso complejo en múltiples etapas que incluye etapas de producción enzimática, difusión, adsorción, reacción y desactivación enzimática.

#### **7.4.2. Acidogénesis y Acetogénesis**

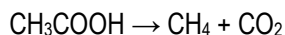
La acidogénesis (fermentación) es el proceso donde se generan ácidos orgánicos volátiles sin intervención de aceptores o donantes electrónicos externos. Esta etapa incluye la degradación de azúcares solubles y aminoácidos en una gran variedad de compuesto simples. Los procesos de acidogénesis presentan rendimientos bacterianos mayores que los integrantes de la acetogénesis y a diferencia de lo que ocurre con estos últimos, pueden transcurrir en presencia de altas concentraciones de hidrógeno o formiato.

La Acetogénesis es la degradación de ácidos orgánicos de cadena larga a acetato, constituye una etapa de oxidación sin aceptores electrónicos internos. Por consiguiente, los organismos oxidantes de ácidos orgánicos (bacterias principalmente), necesitan utilizar un aceptor adicional de electrones como dióxido de carbono o hidrogeniones para formar formiato o hidrógeno molecular respectivamente.

#### **7.4.3. Metanogénesis**

En esta etapa, se incluyen todos aquellos procesos que permiten la producción de metano que es un hidrocarburo combustible de alto valor energético, incoloro e inodoro; bien sea partir de acetato (metanogénesis acetoclástica) como de hidrógeno (metanogénesis hidrogenotrófica).

La metanogénesis acetoclástica (70% del total producido) es considerada la principal etapa metanogénica que produce la ruptura bioquímica del ion acetato formando metano y dióxido de carbono:



En la metanogénesis hidrogenotrófica (30% del total producido), la producción microbiológica de metano es a partir de hidrógeno. Este es un proceso que ocurre de forma sintrópica, a partir de la producción el hidrógeno, producto de la acetogénesis por las bacterias acetogénicas. En la Figura 2 se presenta un esquema de la degradación de la materia orgánica y las cuatro fases que intervienen en el proceso (IDEA, 2007).

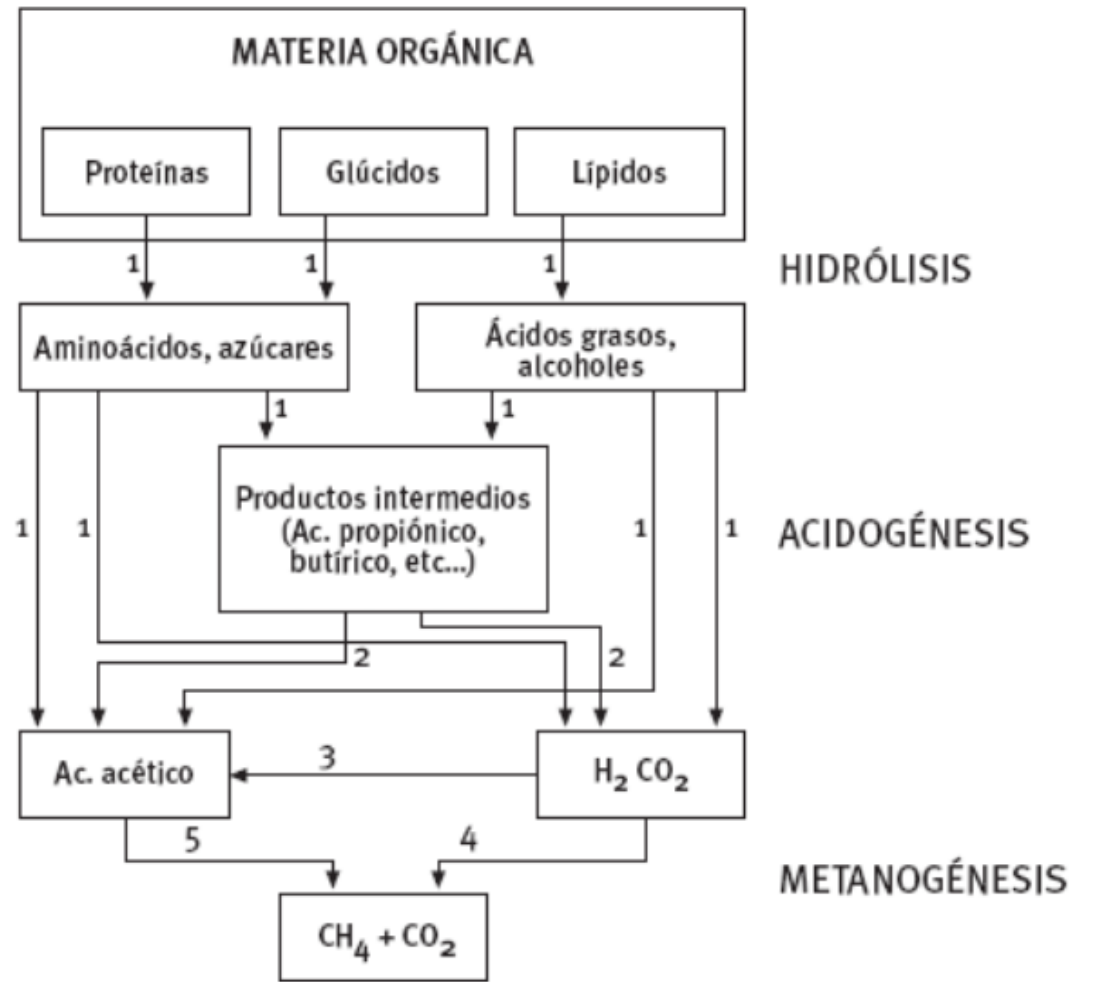


Figura 2. Transformación de la materia orgánica hacia metano durante las cuatro etapas de la digestión anaerobia 1. Bacterias Hidrolíticas y acidogénicas; 2. Bacterias Acetogénicas; 3. Bacterias Homoacetogénicas; 4 Archaeas Metanogénicas Hidrogenofilicas; 5. Archaeas Metanogénicas Acetoclásticas. Fuente: (Gil Molano et al., 2012).

## 7.5. Inhibidores de la digestión anaerobia

La DA muestra una considerable variación en los niveles de inhibición / toxicidad reportados para la mayoría de las sustancias. La razón principal de estas variaciones es la complejidad del proceso de digestión anaeróbica donde los mecanismos tales como el antagonismo, sinergia, la aclimatación, y complejantes podrían afectar significativamente el fenómeno de la inhibición

### 7.5.1. Amoníaco.

Se han propuesto varios mecanismos para la inhibición de amoníaco, tal como un cambio en el pH intracelular, aumento de requisito de energía de mantenimiento, y la inhibición de una reacción enzimática específica. La molécula de amoníaco hidrófobo puede difundir pasivamente en la célula, causando desequilibrio de protones, y/o deficiencia de potasio.

Entre los cuatro tipos de microorganismos anaerobios, los metanógenos son los menos tolerantes y los más propensos a dejar de crecimiento debido a la inhibición de amoníaco (Chen Cheng, 2008).

### **7.5.2. Cationes y metales pesados**

Cuando se alcanzan elevadas concentraciones de metales pesados solubles en el reactor anaeróbico, la producción de biogás se puede detener completamente. Los metales solo tienen poder inhibitorio cuando se encuentran en su forma iónica.

### **7.5.3. Hidrógeno**

Su acumulación en el reactor inhibe la acetogénesis y como consecuencia causa el aumento de la concentración de ácidos grasos volátiles con más de dos carbonos (Ortega, 2006).

### **7.5.4. Sulfuro**

Sulfato es un componente común de muchas aguas residuales industriales. Existen dos etapas de la inhibición como resultado de la reducción del sulfato: la inhibición primaria es debido a la competencia para sustratos orgánicos e inorgánicos comunes de bacterias sulfatoreductoras (BSR), que suprime la producción de metano, y la segunda es la inhibición por la toxicidad del sulfuro a diversos grupos de bacterias. (Chen Cheng, 2008)

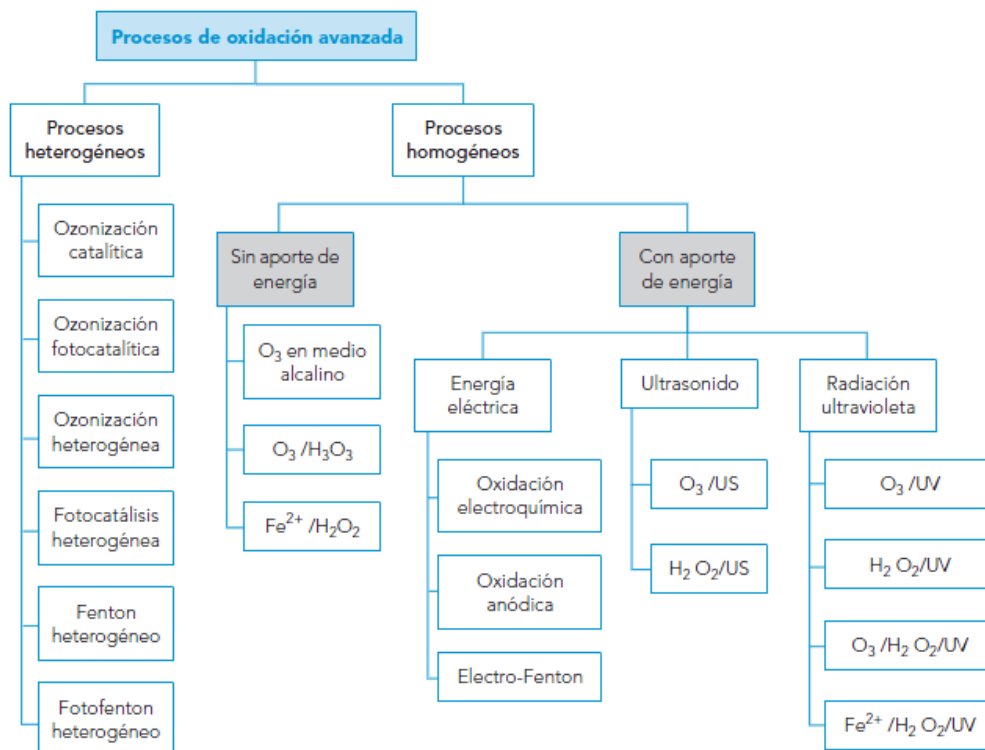
### **7.5.5. Fenoles**

En las vinazas se han encontrado compuestos orgánicos como los fenoles, que inhiben el crecimiento de microorganismos anaerobios según lo reportado en la literatura (Martin 2002; Parnaudeau et al 2008; Siles et al, 2011)

## **7.6. Procesos de avanzados de oxidación.**

La aplicación de estos tratamientos en general se realiza a pequeña o mediana escala y cuentan con una versatilidad en cuanto a que se pueden utilizar un único tratamiento. También se pueden emplear diferentes combinaciones de los mismos con el objetivo de disminuir la concentración del contaminante mediante la degradación parcial o total de este y sus intermediarios, comúnmente conocida como mineralización (Sarria, 2012).

Los Procesos de Oxidación Avanzada (PAOs) fueron definidos por Glaze et al. (1987) como aquellos procesos y tratamientos de aguas a presión y temperatura cercanas a las condiciones ambientales, que implican la generación de radicales hidroxilo en cantidad suficiente para interaccionar con los compuestos orgánicos del medio. Se trata de una familia de métodos en los que se incluyen todos los procesos catalíticos y no catalíticos que utilizan la elevada capacidad oxidante del radical hidroxilo y que se diferencian entre sí en la forma en la que generan dicho radical. La Figura 3 recoge la clasificación de los PAOs en dos grandes bloques, los procesos homogéneos y heterogéneos, distinguiéndose a su vez entre los que operan con un aporte externo de energía y los que no lo emplean. (Rodríguez, 2012).



**Figura 3. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación.**

Fuente: (J.J. Rodríguez, 2012)

El objetivo de la oxidación de los PAOs es mineralizar los compuestos contaminantes convirtiendo estos a componentes relativamente inofensivos y moléculas orgánicas. (Caicedo Dueñas & Muñoz Garzón, 2010).

- Carbono - dióxido de carbono
- Hidrógeno - agua
- Fosfuros- Fosfatos o ácidos fosfóricos
- Sulfuros – sulfatos
- Nitrógeno – nitratos
- Halógenos - ácidos halógeno

Las constantes de reacción ( $k_{OH}$ ,  $r = k_{OH} [\bullet OH] C$ ) para la mayoría de las reacciones de radicales hidroxilo en fase acuosa son del orden de  $10^6$  a  $10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Se caracterizan también por no ser selectivos, lo que es muy deseable para tratar aguas residuales y en general para resolver cualquier problema de contaminación en aguas.

La utilización de estos pre-tratamientos es una alternativa potencialmente atractiva para convertir compuestos orgánicos inicialmente bio-recalcitrantes a posibles productos intermedios fácilmente biodegradables, a biogás, biomasa y agua por vía anaerobia. Para la selección del proceso adecuado del pre-tratamiento de un agua residual, se debe tener en cuenta los objetivos específicos del uso de estos procesos, las posibles formas de la descomposición del oxidante, su potencial oxidativo, las condiciones del operación como pH de la sustancia, temperatura, agitación, también los iones presentes en el contaminante y los costos del proceso, entre otros.



La versatilidad de los PAOs se ve acrecentada por la variedad de procesos existentes para producir radicales hidroxilo. El proceso Fotofenton y  $H_2O_2$ /solar son procesos fotoquímicos ampliamente utilizados por su adaptabilidad.

El peróxido de hidrógeno presenta algunas ventajas en relación a otros oxidantes clásicos. Su coste es relativamente bajo, es una sustancia segura, fácil de manejar y no contaminante, ya que se descompone de manera natural dando lugar a agua y oxígeno.

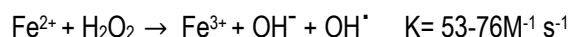
#### 7.6.1. FOTOFENTON

Es un proceso basado en el uso de semiconductores, peróxido de hidrógeno, sales de hierro en combinación con luz UV/visible. Es conocido por la capacidad de oxidar y mineralizar una gran variedad de compuestos tóxicos y no biodegradables. A diferencia del proceso fenton la velocidad de degradación es mejorada mediante aplicación de radiación UV/vis y luz solar en el sistema reactivo. La irradiación foto reduce el ion  $Fe^{3+}$  llevándolo al ion  $Fe^{2+}$  el cual reacciona con el peróxido de nuevo produciendo más radicales hidroxilo ( $OH^\bullet$ ). Básicamente regenera el reactivo cuando se oxida, mejorando el desempeño comparado con el proceso Fenton. Además el fotofenton usa unas 32 veces menos hierro y genera unas 25 veces menos lodos que el Fenton convencional para alcanzar una degradación similar (Sarria, 2012).

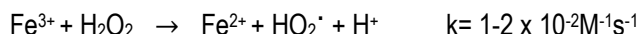
Una ventaja añadida es que el proceso de foto-Fenton es el PAO más apto para emplear la luz solar como fuente de radiación, dado que ciertos complejos que intervienen en la reacción (ferro-hidroxi y ferro-ácidos orgánicos) absorben parte de la luz visible, aprovechándose no sólo la región UV del espectro solar. Esto aumenta de manera considerable la generación de radicales  $OH^\bullet$  y por tanto la eficiencia de la reacción.

En las Ecuación 1 y 2 se observan las dos reacciones principales de la generación de radicales en el proceso FotoFenton (Gil Molano et al., 2012).

Ecuación 1. Generación de radical hidroxilo ( $OH^\bullet$ ) por regeneración de  $Fe^{2+}$

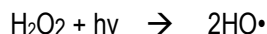


Ecuación 2. Generación de radical ( $HO_2^\bullet$ )



#### 7.6.2. $H_2O_2$ /SOLAR

Se basa en la formación de radicales  $HO^\bullet$  por fotólisis del peróxido de hidrógeno:



Cuando se utiliza el proceso UV /  $H_2O_2$  es importante tener en cuenta que el efecto sinérgico entre el peróxido de hidrógeno y la radiación UV es beneficioso sólo con contaminantes que requieren una condiciones de oxidación relativamente agresivos (altas energías de activación). Hay una concentración de peróxido de más allá de la cual la presencia de peróxido de hidrógeno es perjudicial para la reacción de oxidación, por lo que la concentración óptima de peróxido debe ser estudiada. La presencia de compuestos que absorben fuertemente la luz UV incidente, (ej, ácido húmico), es otro factor que debe ser considerado. Si estos compuestos están presentes en la corriente efluente, se requiere una dosis más alta de peróxido de hidrógeno para lograr el efecto sinérgico (Covinich, Bengoechea, Fenoglio, & Area, 2014).

## 8. METODOLOGÍA

### 8.1. Recolección de vinaza, caracterización y manejo.

La vinaza utilizada para este trabajo se recolectó de un ingenio azucarero del Valle del Cauca, la cual se tomó a la salida de la columna despojadora, con una concentración de sólidos totales entre 10 y 12° Brix.

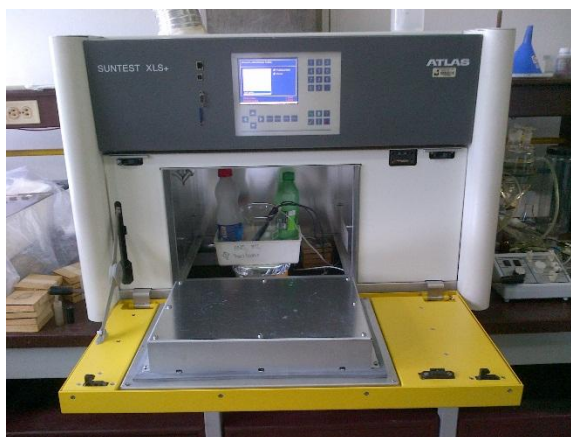
Se realizó el transporte al laboratorio de microbiología y biotecnología ambiental de la Universidad del Valle en recipientes plásticos de 5 Gal; posteriormente se conservó a una temperatura de -20°C en recipientes de color ámbar de 250ml. En el momento de su utilización se llevó a baño María y se sometió a centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. Las características de la vinaza se presentan en la Tabla 8.

**Tabla 8. Propiedades fisicoquímicas de la vinaza cruda.**

Parámetro	Unidad	Promedio
Ph	-	4.51 ± 0.11
DQO	mg/L	118347 ± 18138
COT	mg/L	22305 ± 853
AARR	mg/L	11050 ± 1250
Fenoles	mg/L	398.26 ± 35.74
Sólidos (sacarosa)	°Bx	13.25 ± 1.75

#### 8.1.1. Pre-tratamientos

Se utilizaron dos de tipo fotoquímico, fotofenton y peróxido/solar, estos se realizaron en una cámara de simulación solar SUNTEST XLS+ Serie ATLAS con capacidad de radiación de 500 W m<sup>-2</sup>. La vinaza a tratar se preparó en lotes de 300 ml y tiempos de radiación de 1 h. Para todas las pruebas se mantuvo la vinaza en constante agitación durante todo el tiempo de radiación con ayuda de agitadores magnéticos.



**Figura 4. Cámara de simulación solar SUNTEST – XLS.**

Para cada uno de estos se evaluó la concentración de DQO, AGV, como variables de respuesta. Las pruebas de Foto-Fenton se realizaron partiendo de los resultados de Gil (2012), quien encontró que a una concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 0.5 Molar y una relación molar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe igual a 20, se obtuvo la mayor producción

de metano en el proceso anaeróbico por lotes. En este sentido, se decidió mantener esas condiciones fijas y evaluar solamente la dilución de la vinaza como variable independiente en este grupo de experimentos.

Para el caso de las pruebas con  $H_2O_2$  en presencia de luz solar, se siguió el mismo procedimiento pero con una concentración de  $H_2O_2$  de 0.25 M y sin la adición de hierro. Los experimentos fotocatalíticos se realizaron por lotes, con un volumen de sustrato de 300 ml y un tiempo de exposición de 1 h. El diseño experimental se muestra en la Tabla 9.

**Tabla 9. Diseño experimental para los tratamientos con  $H_2O_2$ .**

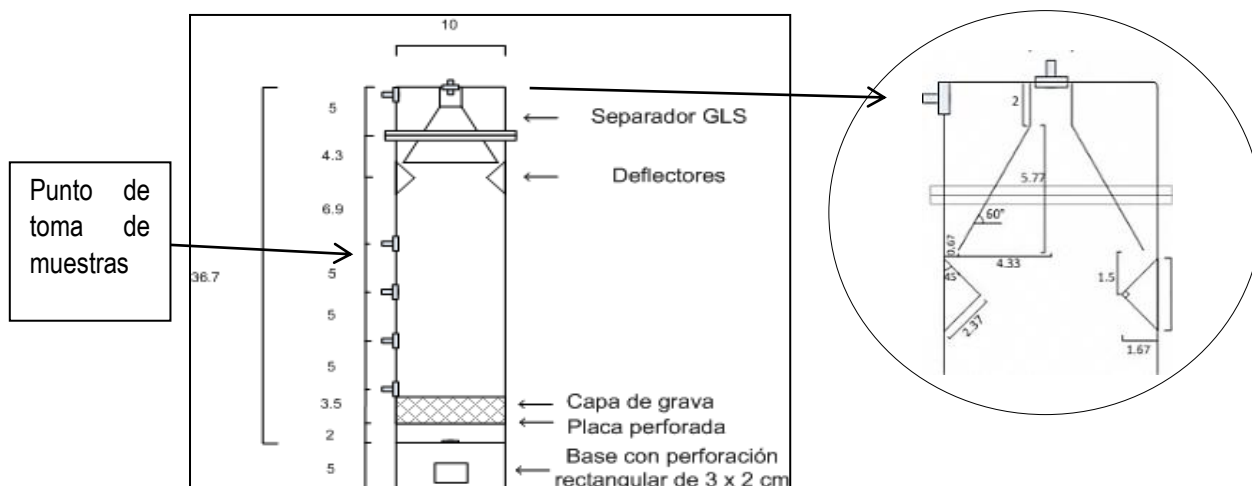
Factor		Niveles	Unidades
[Vinaza]		50	%v/v
		100	
[ $H_2O_2$ ]		0.05	mol L <sup>-1</sup>
		0.25	
		0.5	

## **8.2. Selección del inóculo.**

Para la selección del inóculo se tomaron las recomendaciones de Gil, 2012. En la cual se realizó la mezcla de inóculos de dos sistemas de tratamiento anaerobios, los Inóculos utilizados provinieron de la Corporación de Abastecimientos del Valle de Cauca, CAVASA, ubicado en el municipio de Candelaria, Valle del Cauca y Sucroal S.A., ubicada en el municipio de Palmira, Valle del Cauca. La proporción de cada inóculo en la mezcla fue en una relación de volumen 1:1 v/v. La concentración inicial de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (STV) fue 47,95 gL<sup>-1</sup> y 23,33 gL<sup>-1</sup> respectivamente, (STV/ST=0,49) Los Inóculos utilizados provinieron de la Corporación de Abastecimientos del Valle de Cauca, CAVASA, ubicado en el municipio de Candelaria, Valle del Cauca y Sucroal S.A., ubicada en el municipio de Palmira, Valle del Cauca.

## **8.3. Montaje sistema biológico**

El montaje anaerobio consto de tres reactores tipo Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente (FAFA) de lecho fijo y régimen continuo, utilizando estopa de coco como medio de soporte de biomasa. Los reactores fueron diseñados con base al estudio de (Caicedo, 2006) y construidos en acrílico de 3 mm de espesor (Ver figura 5). Las condiciones para operación del reactor FAFA se muestran a continuación en la Tabla 10.

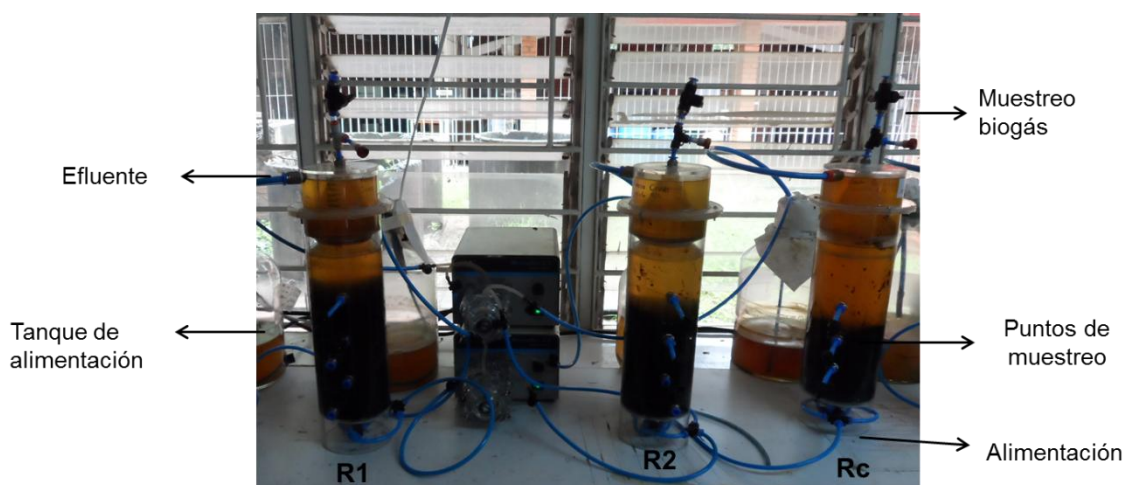


**Figura 5. Esquema de Reactor y separador GLS**

**Tabla 10. Condiciones operacionales de los reactores FAFA.**

Parámetro	Valor
Volumen total	2,3 L
Volumen útil	1,9 L
Volumen del Inóculo y medio de soporte	1,14 L
Tiempo de retención hidráulico (TRH)	14 h
caudal afluente	0,003 m <sup>3</sup> d <sup>-1</sup>

Los reactores fueron alimentados con vinaza diluida para los ensayos blancos y tratamientos. Esta se diluyó con agua potable expuesta al sol por 2 horas para favorecer la evaporación del cloro; el pH se controló cercano a la neutralidad con solución buffer de  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$  a 0.1M. (CRC, 1973). Se controló el ingreso de luz a los reactores por medio de un recubrimiento con bolsas plásticas negras para evitar el crecimiento de organismos fotosintéticos; la temperatura ambiente fue aproximadamente 25°C. como se muestra en la figura 6.



**Figura 6. Montaje reactores FAFA.**

De acuerdo al pre-tratamiento utilizado del sustrato, los reactores se denominaron:

R1: Reactor operando con sustrato pre-tratado con FOTOFENTON

R2: Reactor operando con sustrato pre-tratado con PEROXIDO/SOLAR

RC: Reactor control operando con sustrato sin pre-tratamiento

### 8.3.1. Operación reactores FAFA.

En el desarrollo de la operación de los reactores FAFA se dio en tres fases las cuales se denominan: Aclimatación, fase1 y fase 2, durante un periodo de 4 meses y 15 días.

### 8.3.2. Aclimatación

La fase de aclimatación tuvo una duración de 33 días, y consistió en la recirculación de sustrato con el objetivo de permitir la asimilación y adaptación de los microorganismos a este. Se inició la alimentación con una carga de  $1,5 \pm 0,006 \text{ Kg/m}^3\text{d}$  y un tiempo de recirculación por 72 horas. Las variables monitoreadas durante ese periodo fueron pH, temperatura, demanda química de oxígeno (DQO) en el efluente, volumen de biogás, concentración y volumen de metano.

### 8.3.3. Fases 1 y 2.

En estas etapas se pasó los reactores en alimentación en continuo y se aumentó la carga orgánica en el afluente. Las tablas 11 y 12 muestran la carga orgánica utilizada, la velocidad de carga orgánica VCO y la duración de las fases de operación de los reactores durante un tiempo de retención hidráulica TRH de 14 horas.

**Tabla 11. Carga orgánica utilizada en los reactores ( $\text{Kg.m}^{-3}$ )**

FASES	R1	R2	RC
Acli.	0,700	0,700	0,700
1	0,916	0,918	0,919
2	1,722	1,720	1,721

**Tabla 12. Velocidad de Carga Orgánica en los reactores ( $\text{Kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ )**

VCO $\pm 0,006$				Duración (días)
FASES	R1	R2	RC	
Acli.	1,000	1,001	1,005	33
1	1,599	1,601	1,605	70
2	3,014	3,008	2,998	42

### 8.4. Variables de seguimiento

Durante el proceso de aclimatación y operación de los reactores se realizaron variables de seguimiento al proceso. En la Tabla 13 se muestra las variables y frecuencia de duración.

**Tabla 13. Variables y frecuencia de medición.**

Parámetro	Frecuencia semanal	
	Efluente	Biogás
Materia orgánica (DQO)	[2-3]	
pH	6	
Temperatura	6	
Concentración de AGV	1	
Flujo biogás	-	6
Concentración de CH <sub>4</sub>	-	[2-3]

Las técnicas implementadas siguieron el protocolo establecido por el Standard Methods (1999). La Tabla 14 muestra los métodos analíticos que se utilizaron.

**Tabla 14. Parámetros fisicoquímicos de la vinaza a evaluar durante los tratamientos.**

Parámetro	Sigla	Método
Potencial de Hidrógeno Y Temperatura	pH	Sonda multiparámetros
Demanda Química de Oxígeno	DQO	Método micro o reflujo cerrado mediante una medición fotométrica.
Concentración de Metano	[CH <sub>4</sub> ]	Cromatografía de gases
Ácidos Grasos Volátiles	AGV	Método de valoración (APHA, 1999)



**Figura 7. Espectrofotómetro utilizado en los análisis.**

#### **8.4.1. Demanda química de oxígeno (Método micro o reflujo cerrado).**

Se lleva a cabo con una dilución de vinaza a un factor volumétrico de 1/250. En un tubo de ensayo de 10ml, se vertía 2.5mL de dilución, 1.5 mL de solución digestora y 3.5mL de solución catalizadora. Luego se tapó,

agitó y digesto a 200°C por 2 horas. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se realizó la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620nm.

#### **8.4.2. Medición de Biomasa (Método FISH)**

En el seguimiento del comportamiento de la biomasa, se utilizó la metodología desarrollada para fijación celular y deshidratación de las muestras del protocolo de la técnica hibridación in situ fluorescente FISH (fluorescence in situ hybridization), estandarizado en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología Ambiental de la Universidad del Valle. Este procedimiento proporcionó información sobre la presencia, número, y distribución espacial de las diversas especies. Los microorganismos fijados se observaron por medio de microscopia de epifluorescencia. En la identificación y conteo de las células se utilizó el programa NIS-Elements AR. La cantidad de pozos contados por muestra fueron 5 y los campos visuales de observación efectivos fueron 962.

#### **8.4.3. Análisis Estadístico**

En el análisis estadístico se utilizó gráficas de series de tiempo para identificar el comportamiento de las variables respuesta sobre las experimentales a lo largo de las fases de los reactores. Se utilizó también el coeficiente de correlación de Spearman para establecer la relación matemática entre las variables y la influencia de cada variable respuesta sobre las variables experimentales con el cual se observó la tendencia de los datos.

#### **8.4.4. Cuantificación Metano (Por cromatografía de gases)**

El método utilizado en la medición del volumen de biogás, fue la técnica por desplazamiento de líquido en botellas de vidrio de 500 mL a presión atmosférica. La cuantificación de gas metano se realizó en el cromatógrafo Shimadzu GC 14, con Sistema de detección FID. Se empleó una columna capilar de sílice fundida Carboxen 1006 PLOT 30m x 0,53 mm. El software utilizado fue Peak Simple 3.0. El volumen de muestra inyectado fue 2µL. Los picos de metano se detectaron alrededor de los 54 segundos, Las condiciones de operación del cromatógrafo fueron: H<sub>2</sub>: 40 psi, Aire: 40 psi, carrier 1: 400 psi y carrier 2: 60 psi. El gas de arrastre de ambos carriers fue Nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>); la temperatura a la que operó la columna fue 200°C, el Inyector y el detector 220°C.

#### **8.4.5. Cuantificación de Ácidos Orgánicos (Método de Valoración (APHA, 1999))**

Se tomó 120mL de muestra de vinaza diluida con un factor volumétrico de 1/100. Se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos, y se tomó 100mL de sobrenadante al cual se añadió 100 mL de agua destilada. Se controló el pH a menos de 3 unidades con HCL concentrado y se almacenó hasta el momento de procesar muestra.

La muestra debe ser limpiada para su análisis, para lo cual se emplea un sistema de destilación que consta de un balón de 500mL dentro de una chaqueta de calentamiento, acoplado a un condensador de vidrio en serpentín. La muestra se destila hasta obtener exactamente 150mL. Esta muestra se titula con NaOH 0.1N.

#### **8.5. Gráficos de cajas (box-plot).**

El método utilizado para la comparación estadística entre los pretratamientos realizados y el control fue los gráficos de cajas, los cuales se utilizan para Comparar gráficamente el comportamiento de una variable en distintos grupos.

#### **8.6. Mediana y desviación estándar.**

Se utilizó la mediana y la desviación estándar para generar una comparación estadística simple entre los pretratamientos y el control, con el fin de determinar si existe o no diferencias entre estos.



## 9. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 9.1. Aclimatación.

Durante la fase de aclimatación, el seguimiento de variables como concentración de DQO en el efluente, pH, temperatura, volumen de biogás y metano, tuvieron fueron de gran importancia para determinar el inicio de la asimilación del sustrato. La Tabla 15 muestra en un rango el valor máximo y mínimo obtenido para el pH y los promedios de la eficiencia de asimilación de materia orgánica del sistema (%Remo DQO), el volumen de biogás, el volumen de metano, la biomasa y la temperatura, durante el tiempo de aclimatación. El tiempo establecido para esta fase (15 días) tuvo como objetivo permitir que el inóculo adquiriera una mayor asimilación en la degradación de la vinaza, que beneficiara el proceso de operación, (Horada et al., 1996). (Ver Figura 8).

**Tabla 15. Resultados fase de aclimatación**

Variable	Condición inicial.	R1	R2	RC
pH Efluente (Und)	N.A.	[8,03 – 7,12]	[8,06 - 6,50]	[7,80 – 7,52]
% Remo DQO	N.A.	41.2	35.3	53.2
V. Biogás (mLdía <sup>-1</sup> )	N.A.	20	16	23
V.CH4 (mLdía <sup>-1</sup> )	N.A.	2.5	2.5	2.4
Biomasa (células*mL <sup>-1</sup> )	2,86E+09	2,50E+09	8,07E+08	1,81E+09
Temperatura (°C)	N.A.	26- 27		

Teniendo en cuenta que el rango optimo del pH establecido para la digestion anaerobia debe estar entre 6,5 y 7,5 (Gutierrez et al., 2013), el comportamiento de esta variable en los tres reactores, permanecio cercano a este rango, sin embargo los valores máximos reportados en la Tabla 15, se obtuvieron en los primeros 20 dias de haber iniciado el proceso. Parte de este comportamiento se puede atribuir a la capacidad amortiguadora de la biomasa, generada por la actividad endogena de la mezcla de inoculos utilizado.

El mayor porcentaje de remocion de materia orgánica en términos de DQO lo obtuvo el reactor RC, sin embargo fue el que menor producción metano alcanzo en entre los promedios de los reactores, a diferencia del reactor R2 que obtuvo la mayor producción en esta variable con el menor promedio de asimilación de sustrato (%Remo DQO).

El valor del promedio de la cuantificación de biomasa en términos de cantidad de células\*mL<sup>-1</sup> reportado en la Tabla 15, corresponde al día quince (15) después de haber iniciado la aclimatación. Para los reactores R1 y RC no hubo diferencias representativas en el orden de magnitud con respecto a la cantidad de biomasa medida en el tiempo inicial. El valor obtenido para el reactor R2 indico una disminución en una unidad logarítmica, respecto al tiempo inicial de esta variable ( $B_{inicial} = 2,86E+09$  células\*mL<sup>-1</sup>). La disminución de la biomasa para este reactor, se puede atribuir a que los microorganismos necesitaron más tiempo para adaptarse y asimilar el sustrato pre-tratado con el proceso peróxido/Solar. Sin embargo comparando los valores promedio obtenidos para las variables respuesta (volumen de biogás y metano) entre el reactor R2 y el reactor RC, no presentaron diferencias representativas, y además el reactor R1 presenta un porcentaje promedio de asimilación de sustrato mayor por 3,9% al reactor R2. Esto podría indicar un mayor aprovechamiento de sustrato con respecto al reactor R2, posiblemente utilizado para la generación de productos finales orgánicos e inorgánicos y a la generación de nuevas células.

Los resultados, indican que hubo asimilación del sustrato suministrado por parte de la biomasa en los tres reactores. Esta afirmación se comprueba con la remoción de materia orgánica obtenida y la tasa de utilización de sustrato expuesta en el ítem 10.2.1; por otra parte la disminución de biomasa en el día 17 para el reactor

R2 solo se atribuye a un proceso de adaptación (ver Tabla 17). Sobre esta fase se concluye que los productos obtenidos durante la aclimatación, en los tres reactores son el resultado de un inicio de asimilación del sustrato suministrado y también son la derivación de la actividad endógena del inoculo, dado que este proceso de autoxidación aparece cuando hay una ausencia de la materia orgánica que usaban como sustrato (Cabanes, 1989) y depende de la biodegradabilidad del nuevo sustrato el estímulo a este mecanismo.

Dado que los resultados mostrados en las series de tiempo son de tipo observacional se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman para analizar el nivel y tipo de influencia entre las relaciones de los diferentes sustrato y las concentraciones suministradas, el inoculo y el TRH. Esto dio como resultado los comportamientos del %RDQO, VB producido y %CH<sub>4</sub>, para cada fase de operación.

En la Tabla 16, se muestra los resultados obtenidos.

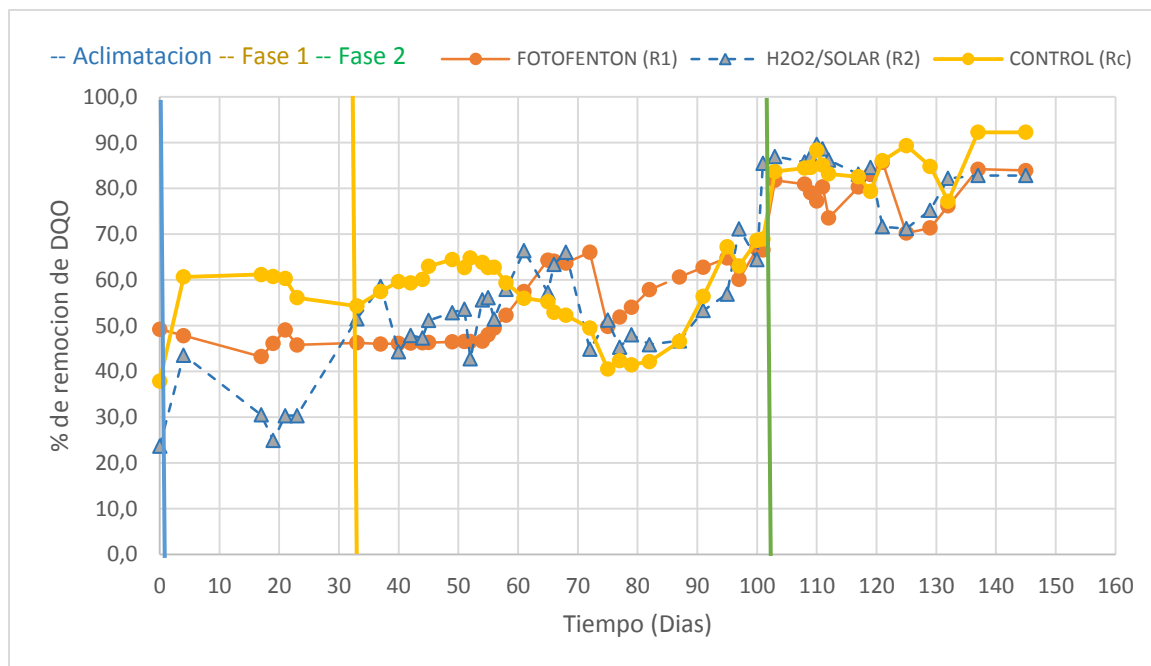
**Tabla 16. Resultados del Coeficiente de correlación (%RDQO-VB-VM)**

Variable	R1	R2	RC
%RDQO / VB	0.66	0,71	-0,20
	0.71	0,60	-0,36

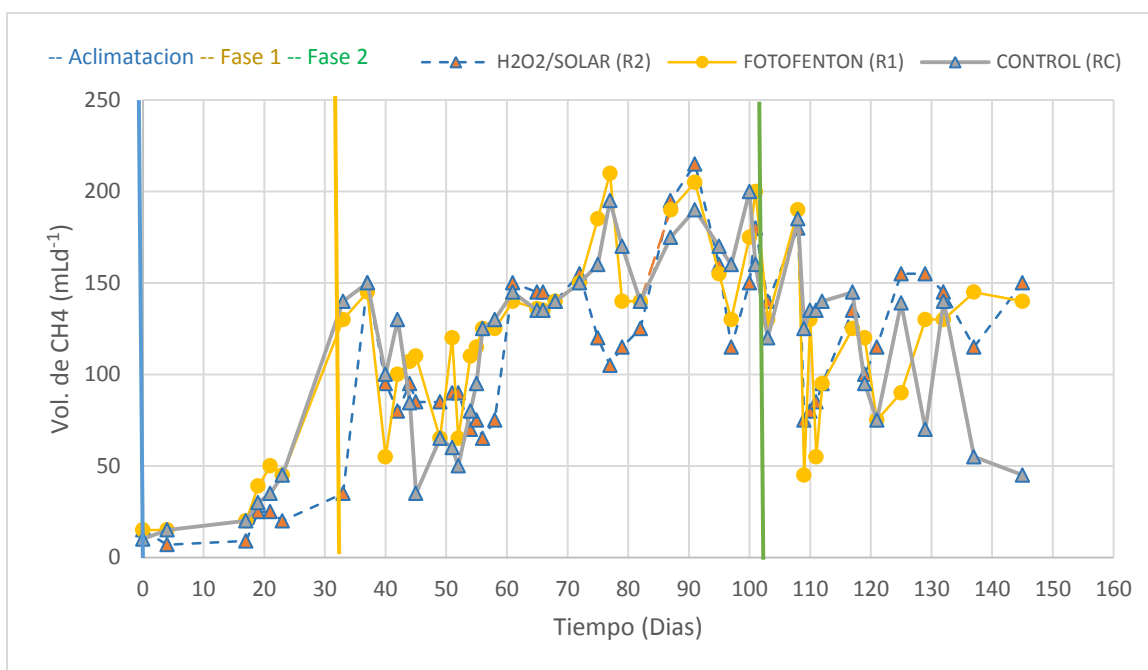
De acuerdo a los resultados los Reactores R1 y R2 presentaron una relación positiva entre moderada y débil, lo cual indica relaciones directas entre la asimilación de las formas de carbono en el sustrato y la producción de metano y dióxido de carbono. Esto se debe probablemente al efecto de los pretratamientos que posiblemente provocaron cambios en las estructuras químicas de los compuestos contaminantes, favoreciendo la asimilación del sustrato. Por otra parte para el RC la relación encontrada es negativa y está en un rango entre moderada y débil. Estos resultados para el reactor RC pueden atribuirse a que las posibles formas de carbono del sustrato no favorecieron la asimilación por parte de los grupos de microorganismos responsables de producción de biogás y metano. Teniendo en cuenta el balance de carbono la asimilación del sustrato pudo ser utilizado en la sucesión de microorganismos y la producción de dióxido de carbono.

## **9.2. Operación de Reactores**

Los resultados de las variables respuesta de la fase de aclimatación y las dos fases de operación se presentan en series de tiempo, indicando los cambios de fase, con el objetivo de identificar la tendencia de las variables respuesta, sobre las variables experimentales. En la Figura 8 y 9 se muestran los resultados del comportamiento del %RDQO y el VB obtenido.



**Figura 8.** Eficiencia de consumo de sustrato para los reactores R1, R2 y RC



**Figura 9.** Volumen de biogás producido para R1, R2 y RC

Las eficiencias y los volúmenes de biogás obtenidos para los tres sistemas evaluados, tuvieron comportamientos similares durante el proceso de operación. Para la primera fase se puede observar una tendencia de aumento en la eficiencia de remoción de materia orgánica y de volumen biogás producido. En la segunda fase se evidencia el decaimiento de las dos variables analizadas. Comparando los resultados obtenidos en los sistemas biológicos en las dos fases, se puede indicar que parte del consumo de sustrato involucro la transformación de la materia orgánica para la producción de biogás, sin embargo a partir de la segunda fase se presenta un aumento del %RDQO y una disminución del volumen de biogás comparada con la tendencia presentada en la primera fase. (Ver Figura 8)

Las eficiencia de remoción de materia orgánica alcanzadas durante el proceso de experimentación en los tres reactores, corresponden a sistemas biológicos de alta tasa (%Remoción entre 70 y 90%), lo cual indica un buen funcionamiento de los reactores. Por lo general los reactores de alta tasa podrían generar una cantidad máxima de metano de 0,35 m<sup>3</sup>/Kg DQO eliminada en condiciones de presión y temperatura normales. Sin embargo de acuerdo a lo observado en la Figura 9, con el cambio de carga orgánica disminuyo la producción de biogás en los tres reactores. Esto probablemente se deba a que el aumento en la concentración del sustrato modifico el comportamiento de la comunidad trófica desarrollada (inhibición) y bajo esa situación disminuyo la proporción de masa anabolizada. En general en procesos de digestión anaerobia se utiliza para la sucesión de células solo el 3% del carbono disponible. (Díaz-Báez, Vargas, & Pérez, 2002).

Por otra parte Jiménez, R. 2006 (Jiménez *et al*, 2006) menciona que una alta carga orgánica también puede ser un factor limitante para el proceso de digestión anaerobia. La vinaza contiene compuestos fenólicos y sales que inhiben la actividad metanogénica. El color es una importante fracción de la carga orgánica inicial. Los pretratamientos de Fotofenton y peróxido/Solar alcanzaron un porcentaje de remoción de color de 6,5 y 15,9% respectivamente, lo cual indica que gran parte de la carga orgánica estuvo presente en el proceso de digestión anaerobia. Sin embargo el TRH se considera que fue una limitante para este proceso de asimilación. En el trabajo realizado por (Espinoza et al., 2009) con vinaza de agave, a través de un análisis de optimización de respuesta múltiple y modelo matemático, mencionan que se requiere un TRH mínimo de 5 días para una buena producción de metano.

### 9.2.1. Cuantificación de Biomasa y Tasa de consumo de sustrato

Los promedios obtenidos de la cuantificación de células para la fase de aclimatación y las fases de cambio de carga orgánica, se muestran en la Tabla 17. Las condiciones de operación son las que se presentan en la Tabla 11, 12 y 13. La primera medición durante la fase de operación se toma pasados 5 días de la finalización de la fase de aclimatación.

**Tabla 17.** Biomasa en número de células\*mL<sup>-1</sup>

Tiempo (días)	R1	R2	RC
0	2,86E+09		
17	2,50E+09	8,07E+08	1,81E+09
44	3,30E+09	1,70E+09	3,60E+09
82	3,28E+09	2,72E+09	4,33E+09
121	2,39E+09	1,18E+09	1,70E+09
145	4,47E+09	4,59E+09	3,72E+09

A partir de los resultados obtenidos de la biomasa (células\*mL<sup>-1</sup>), los cambio de carga orgánica en los tres reactores, no muestran grandes variaciones en términos de magnitud, sin embargo se debe tener en cuenta que la cuantificación de células, identifica todos los organismos vivos sin distinción de tipo.

Con los resultados obtenidos en la Tabla 17, se obtuvo la tasa de consumo de sustrato (U) que denota la masa máxima que puede ser metabolizado por unidad de tiempo y por unidad de masa de microorganismos presentes en el reactor (mg DQO/ células \*día), para el mismo tiempo. A partir del balance de sustrato (DQO) representado en la Ecuación 1 y asumiendo mezcla completa en los tres reactores anaerobios.

$$\frac{d(VS)}{dt} = qS_0 - qS - UVX \quad \text{Ecuación 1}$$

So y S son las concentraciones de sustrato a la entrada y salida del reactor (DQO mg\*L<sup>-1</sup>); q es el caudal volumétrico de la alimentación y X es la concentración de biomasa (células\*L<sup>-1</sup>). Para estado estacionario d(VS)/dt =0 y la expresión con la que se determinó U es la ecuación 2.

$$U = (S_0 - S)/(X\Theta) \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde  $\Theta$  es el tiempo de retención hidráulico ( $\Theta$ (día) de aclimatación  $\neq \Theta$  de operación).

La (Tabla 18). Muestra la variación de la tasa de consumo o utilización de sustrato, para los tres reactores en las tres fases de experimentación. Las líneas paralelas al eje Y representan el inicio y fin para cada fase.

Tabla 18.Tasa de consumo de sustrato para R1, R2 y RC

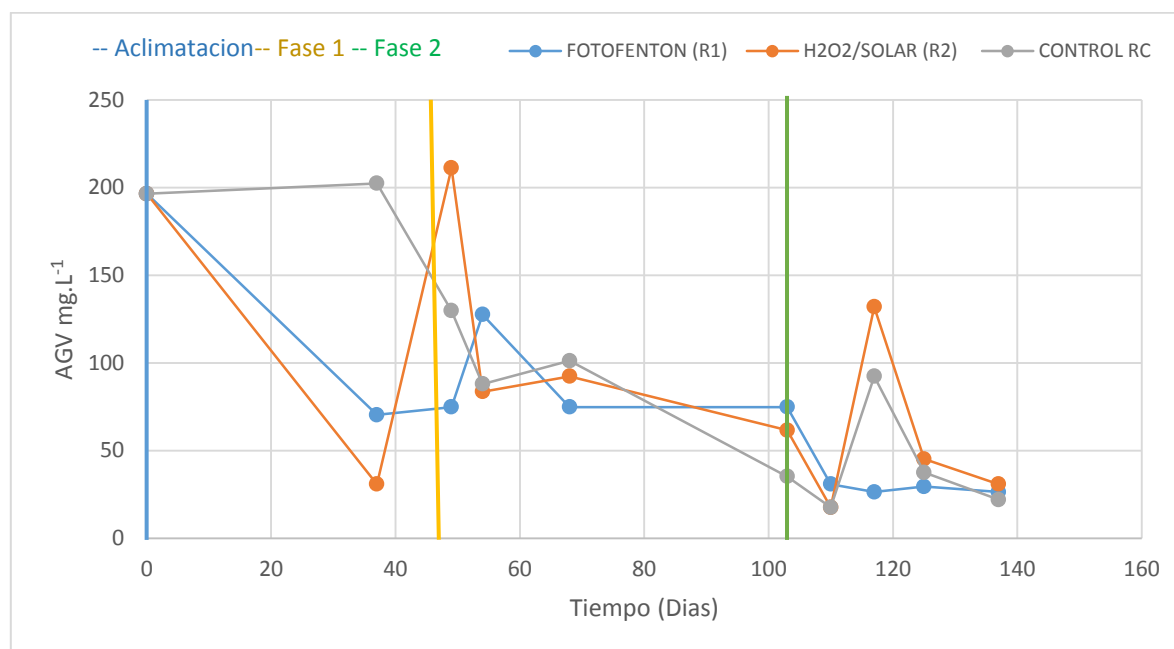
Fase	Día	Fotofenton	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /SOLAR	Control
1	44	5.00E-05	9,89E-05	8,29E-05
1	82	6,11E-05	6,01E-05	4,44E-05
2	121	3,54E-04	3,48E-04	2,90E-04
2	145	1,35E-04	1,03E-04	1,42E-04

A partir de los resultados de la tasa de consumo de sustrato, se observa que el comportamiento de los microorganismos dentro del sistema biológico del R1, bajo las condiciones de operación hasta el día 122 presenta una tendencia de aumento. Para el reactor R2 en la fase 1 y de acuerdo a la (Tabla 17) se infiere que la tasa de consumo presenta una velocidad de asimilación más rápida teniendo en cuenta que la cantidad de biomasa activa es menor comparada con la cantidad de biomasa en el tiempo inicial y con los reactor R1 y RC en el mismo tiempo. Por otra parte el pretratamiento del sustrato, probablemente permitió aumentar su asimilación y para el día 37 la cantidad de biomasa en el reactor R1 y R2 es mayor al tiempo inicial y por lo tanto se demuestra que parte de la asimilación del sustrato se destinó a la generación de nuevas células.

A partir de los resultados obtenidos en la (Tabla 19 y 20) se puede observar que el R1 tuvo una mejor tendencia por lo tanto este resultado indica que el inóculo se adaptó a las condiciones de operación y tuvo la capacidad de asimilación e inhibición de la carga orgánica. La mayor tasa de consumo de acuerdo al seguimiento que se tuvo del proceso, fue el día 121 con un valor máximo de utilización de  $3.54 \times 10^{-4} \text{ mgDQO} \cdot (\text{células} \cdot \text{día})^{-1}$  para el reactor R1,  $3.48 \times 10^{-4} \text{ mgDQO} \cdot (\text{células} \cdot \text{día})^{-1}$  para el reactor R2 y  $2.90 \times 10^{-4} \text{ mgDQO} \cdot (\text{células} \cdot \text{día})^{-1}$  para el reactor RC. El descenso en la tasa de utilización de sustrato luego del inicio de cada fase probablemente se deba a la presencia y/o acumulación de compuestos tóxicos (fenoles, sales y  $\text{H}_2\text{S}_{\text{aq}}$ ) por el aumento de carga orgánica, lo cual que inhibió la actividad de los diversos grupos de bacterias anaerobias facultativas, estrictas y *arqueas* que intervinieron en el proceso de digestión anaerobia.

### 9.2.2. Comportamiento de la concentración de AGV's

La estructura de las comunidades de arqueas metanogénicas está estrechamente correlacionada con la concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs). Estos son compuestos intermedios importantes en la ruta metabólica de fermentación de metano y pueden causar estrés microbiano si está presente en altas concentraciones (Espinoza-Escalante et al., 2009). Para un periodo de 145 días de la operación de los reactores, se hizo seguimiento de la concentración AGVs en el punto de muestreo del sistema. Los resultados obtenidos de las mediciones se muestran en la Figura 11.



**Figura 10.** Comportamiento de la Concentración de AGVs para R1, R2 y RC

La co-variable pH es una variable de control del sistema importante porque dependiente de la capacidad de amortiguación del proceso de digestión anaerobia en el que el componente amortiguador más importante es el bicarbonato para arqueas metanogénicas. A partir de su importancia y teniendo en cuenta la ausencia de alcalinidad en los tres tipos de sustratos suministrados, se presenta en la Tabla 19 los rangos de pH obtenidos para el mismo tiempo de seguimiento de los AGVs.

**Tabla 19.** Rangos de pH de los reactores

Fases	R1	R2	RC
Acimatación	6,51-7,66	6,51-8,06	6,70-7,55
1	6,11-7,11	6,07-6,95	6,05-7,21
2	6,07-6,98	6,07-6,94	6,34-6,93

Como se puede observar en la Figura 11, el comportamiento de la variable AGVs en el tiempo, indica una disminución durante el periodo de seguimiento, esto sugiere un consumo y una transformación de los AGVs específicamente en forma de ácido acético que representa a una fracción aproximada del 70% de la materia orgánica (DQO) asimilada por parte de la biomasa activa (Haandel & Lettinga, 1994). Por otra parte la concentración más alta registrada durante el tiempo de seguimiento es  $196.5 \text{ mgL}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$ . (Wang *et al*, 1999), menciona que cuando la concentración de ácido acético en el sistema es mayor que  $1.400 \text{ mgL}^{-1}$ , la velocidad de degradación ácido propiónico presenta una disminución drástica y este ácido es considerado como el más tóxico de los AGV en los digestores anaerobios. Sin embargo una disminución como la observada para el día 137, indica que los AGVs se están consumiendo más rápido de lo que las bacterias fermentativas los están produciendo, lo cual puede generar limitación durante la acetogénesis y por consiguiente en la metanogénesis que es la última fase del proceso de digestión anaerobia y que presenta una la velocidad de asimilación limitante. Sin embargo los valores de AGV nunca excedieron los valores de inhibición

Relacionando el comportamiento de los AGVs con los resultados obtenidos en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** 19 para la primera fase, la disminución en la producción de biogás, no se atribuye a una inhibición por acumulación de AGVs, ya que la concentración en los sistemas biológicos no alcanzó los valores inhibidores. Por otra parte la capacidad amortiguadora en los sistemas para la primera fase se encuentran en los valores límite de disminución a la actividad metanogénica (valor mínimo del rango de pH, Ver Tabla 19). Por debajo de estas unidades la actividad de las arqueas es perturbada negativamente. Por el contrario en la segunda fase y para los tres reactores se presentan eventos que mostraron pH de 6 unidades en el rango de operación. Esto podría indicar que la capacidad amortiguadora del sistema se consumió debido a un bajo tiempo de contacto con el inoculo.

Para conocer la asociación entre las variables respuesta (volumen de biogás y metano) y el comportamiento de la concentración de AGVs durante el periodo de seguimiento, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman. Los resultados se muestran en la Tabla 20.

**Tabla 20.** Coeficiente de correlación de Spearman (AGVs/VB/VM)

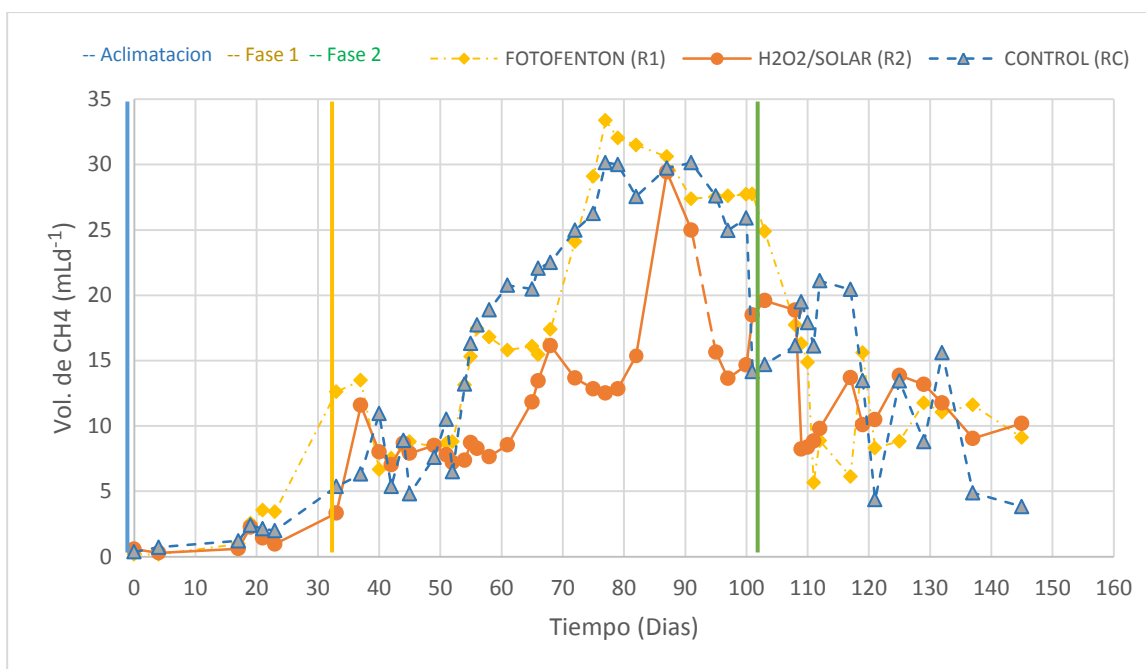
VARIABLE	AGVs		
	R1	R2	RC
VB	-0,39	-0,38	-0,40
VM	-0,37	-0,27	-0,32

El resultado del coeficiente para los tres reactores presenta una asociación débil en la relación AGV: VB y AGV: VM. Sin embargo las relaciones son negativas. Teniendo en cuenta los resultados para el

comportamiento de los tres reactores, en la aclimatación la disminución de la concentración de AGVs presento un incremento el volumen de biogás. Para los siguientes 15 días de la primera fase un ligero aumento de AGVs se asoció con una disminución del volumen de biogás, de igual manera sucede al iniciar la fase dos en un lapso de 10 días. La relación establecida por el coeficiente correlación de los AGV con el VM para los tres reactores no presenta una asociación que garantice un relación entre la utilización de forma secuencial de los productos metabólicos generados. Estos resultados pueden estar asociados con las formas de carbono del sustrato, y a los grupos de bacterias que prevalecieron bajo las condiciones de operación que muestran una mayor velocidad en la relación entre producción y consumo de AGVs. Esta relación inversa, junto con la limitación en TRH operado, se consideró no benéfica para las arqueas metanogénicas.

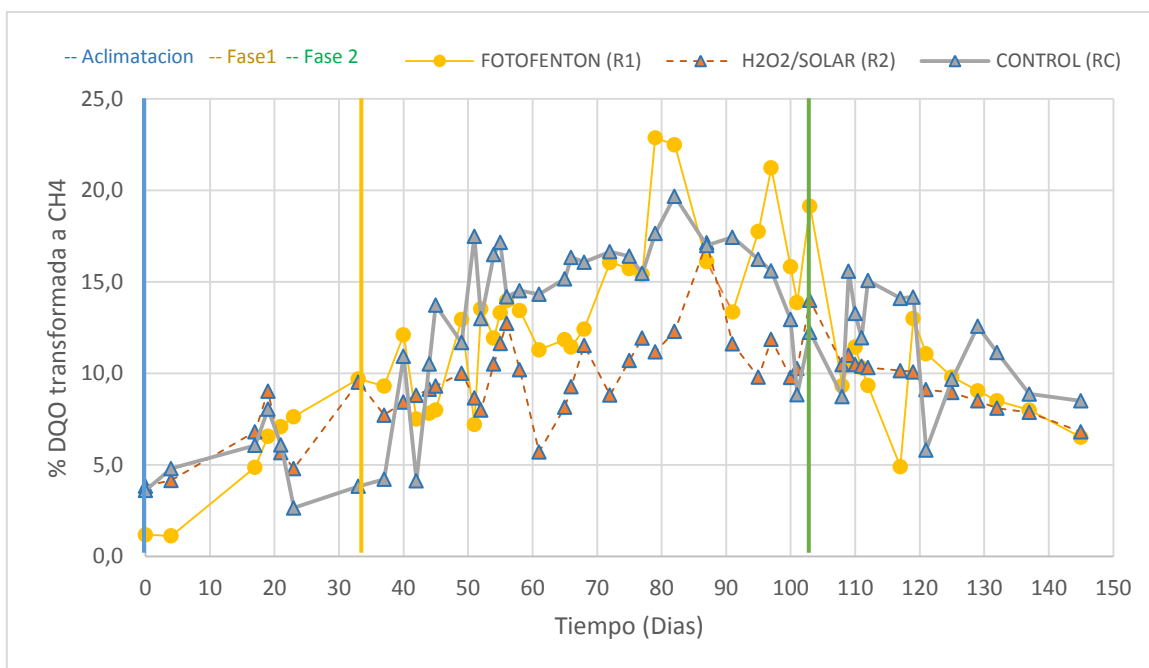
### 9.2.3. Producción de CH<sub>4</sub>

En la Figura 12 y 13 se muestran las series de tiempo con los resultados obtenidos del comportamiento del volumen de gas metano y el porcentaje de DQO transformada por arqueas metanogénicas. El volumen de metano (CH<sub>4</sub>) en la primera fase para los tres reactores alcanzó su mayor producción (R1= 33,4 mL\*d<sup>-1</sup>, R2=29,4 mL\*d<sup>-1</sup>, RC=30,1 mL\*d<sup>-1</sup>) y disminuyó antes de que iniciara la segunda fase. La mayor de transformación de materia orgánica (DQO) para los tres reactores, bajo las condiciones de operación se obtuvo alrededor del día ochenta y cuatro (84). Los porcentajes máximos obtenidos en términos de DQO, muestran que el reactor R1 es el que alcanza el mayor porcentaje de transformación con 22,9%, y en los reactores R2 y RC obtuvieron proporciones de 17.2% y 19.7% respectivamente.



**Figura 11.** Volumen de metano producido para R1, R2 y RC





**Figura 12.** %DQO transformada a CH<sub>4</sub> para R1, R2 y RC

La perturbación que causó el rápido descenso en la producción de metano después de alcanzar su máxima producción en la primera fase se atribuye al aumento del consumo de AGVs (CH<sub>3</sub>COOH) y una disminución en la disponibilidad de ácido acético para la obtención de acetato que es sustrato de las arqueas metanogénicas y que representa el 70% del total de CH<sub>4</sub> producido. La disminución de ácido acético probablemente se deba a la competencia por sustratos por parte del grupo de bacterias sulfato reductoras (BSR) que en presencia de sulfatos y TRH menores a 48 horas favorecen su crecimiento y además la velocidad de generación de estas bacterias es más alta que las arqueas metanogénicas. Para *Desulfotomaculum acetoxidans* se ha reportado una tasa de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ) entre 0,65 y 1,39 días<sup>-1</sup>, mientras que para *Methanosaeta soehngenii*, el  $\mu_{\max}$  oscila entre 0,08 y 0,29 días<sup>-1</sup> (Díaz-Báez et al., 2002).

Para la segunda fase de experimentación, la relación entre la eficiencia de asimilación de sustrato (%RDQO) y los resultados presentados en las series de tiempo (Figura 12 y 13), muestran que la función de la asimilación del sustrato no beneficio la actividad de las arqueas metanogénicas, lo cual indica que la mayor proporción del biogás generado durante estas fases tiene un alto contenido de compuestos inorgánicos, principalmente dióxido de carbono y probablemente H<sub>2</sub>S. Teniendo en cuenta lo mencionado por (Barrera et al. 2014) al aumentar la concentración de este ácido en fase gaseosa puede causar el fracaso del proceso de digestión.

En el análisis del coeficiente de correlación se optó por utilizar el porcentaje de volumen de gas metano contenido en el biogás medido y no el volumen producido, ya que el porcentaje de CH<sub>4</sub> establece la relación VM/VB que se obtuvo a partir de la asimilación de materia orgánica y representa el potencial energético del biogás obtenido. En la Tabla 21 se muestran los resultados de la correlación.

**Tabla 21.** Resultados de coeficiente de correlación

Reactores		R1		R2		RC	
FASES	Variables	% CH <sub>4</sub>	VB	% CH <sub>4</sub>	VB	% CH <sub>4</sub>	VB
1	%RDQO	0,55	0,75	0.31	0.50	-0,464	-0,342
2		-0,26	0,68	-0,77	0,66	-0,315	-0,223

% CH<sub>4</sub>= porcentaje de gas metano contenido en el volumen de biogás medido VB= volumen de biogás

De acuerdo a los resultados los Reactores R1 y R2 presentaron una relación positiva entre moderada y débil, lo cual indica relaciones directas entre la asimilación de las formas de carbono en el sustrato y la producción de metano y dióxido de carbono. Esto se debe probablemente al efecto de los pretratamientos que posiblemente provocaron cambios en las estructuras químicas de los compuestos contaminantes, favoreciendo la asimilación del sustrato. Por otra parte para la segunda fase se muestra una relación negativa entre moderada y débil para los reactores R1 y R2. Esto indica que la relación entre las variables es inversa, en la medida en que aumentó la eficiencia de remoción de materia orgánica, disminuyó la producción de biogás y metano, para la investigación y las condiciones en que se realizó esta relación fueron negativa. Por otra parte para el RC la relación encontrada es negativa y está en un rango entre moderada y débil. Estos resultados para el reactor RC pueden atribuirse a que las posibles formas de carbono del sustrato no favorecieron la asimilación por parte de los grupos de microorganismos responsables de producción de gas metano. Teniendo en cuenta el balance de carbono, la asimilación del sustrato puede ser utilizado en la sucesión de microorganismos y la producción de dióxido de carbono.

La diferencia en el tipo de relación establecida para la primera fase del reactor R1 y R2 respecto al reactor RC, indica que bajo las condiciones de operación el pretratamiento del sustrato mejoró un 3,7 y 2,8% respectivamente (%DQO transformada) la asimilación y favoreciendo la población de arqueas metanogénicas. Sin embargo el proceso de digestión de las arqueas metanogénicas depende del TRH, ya que estos microorganismos estrictos tiene una tasa máxima de crecimiento del orden de cinco veces menor que las bacterias acidogénicas (Flotats *et al*, 1997) y un tiempo de generación de 2 a 12 días. La actividad metanogénica para la primera fase en los tres reactores no fue afectada por la capacidad de amortiguación de los sistemas biológicos. Para las fase dos de la operación, es probable que se haya generado una inhibición que impidió el desarrollo de las arqueas metanogénicas, atribuida al TRH y al aumento de la concentración de materia orgánica (DQO) alimentada, lo que afectó la producción de biogás y la tasa de consumo de sustrato. (Díaz-Báez *et al.*, 2002) señala que la sobrecarga puede dar lugar a que las bacterias acetogénicas crezcan rápidamente y aumenten la producción de ácido acético, ocasionando una disminución de pH y una liberación de hidrógeno que puede inducir el aumento en la formación de ácido propiónico y paralelamente causar el cese del metabolismo y crecimiento de las bacterias acetogénicas.

Según Jan Moestedt y col. (2013), menciona que la baja producción de metano se ve afectada por los contenidos de nitrógeno amoniacal total que pudo generar perturbaciones en el proceso. Este es un componente tóxico y ha sido demostrado ser inhibitorio a la mayoría de los microorganismos implicados en el proceso de producción de biogás, particularmente para las bacterias metanogénicas Acetoclásticas (Chen *et al.*, 2008)(Moestedt *et al*, 2013) (Hansen *et al*, 1998).

Esta inhibición pudo generar la aparición de los co-cultivos de bacterias oxidativas del acetato (AOB – por sus siglas en ingles), y metanógenos hidrogenotróficas que tienen normalmente tasas de crecimiento más bajas que los metanógenos acetoclasticas. También, la introducción de la vía de AOB implica un menor rendimiento de gas (Schnürer *et al*, 1999) (Westerholm, 2012).

El alto contenido de proteína en las vinazas diluidas también resulta en la liberación de azufre orgánico como sulfuros, que tienen diversos efectos negativos en el proceso industrial de producción de biogás. Estos incluyen la corrosión, la precipitación de elementos traza, la inhibición de los microorganismos y el consumo de material orgánico (principalmente alcoholes, ácidos grasos volátiles (AGV) e hidrógeno), que de otro modo se utiliza para la producción de metano (Chen *et al.*, 2008) (Moestedt *et al*, 2013) (van der Veen, Fermoso, & Lens, 2007).

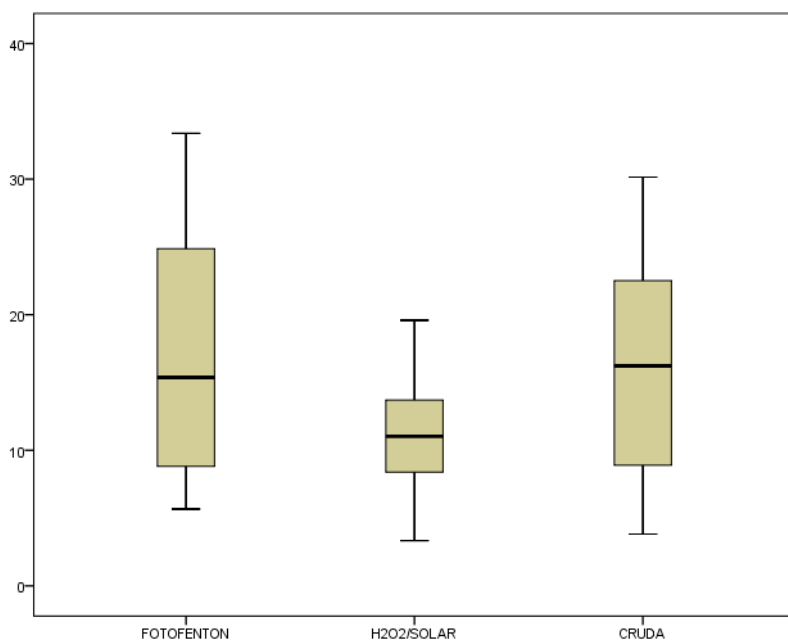
#### 9.2.4. Determinación Del mejor pretratamiento en términos de producción de metano.

Para determinar el mejor pretratamiento se realizó la (tabla 22) comparativa entre los dos pretratamientos.

**Tabla 22.** Variables para selección del mejor pretratamiento.

PARAMETRO	FOTOFENTON	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /SOLAR	Rc
%RDQO	83,9	82	92,3
Vol. Biogas (mL)	215	210	200
Vol. CH <sub>4</sub> (mL*d <sup>-1</sup> )	33,4	29,7	30,2
Tasa de consumo U (mg DQO/ células *día)	3,54E <sup>-04</sup>	3,48E <sup>-04</sup>	2,90E-04
% DQO transformada a CH <sub>4</sub>	22,9	17,2	19.7
Biomasa (células*mL <sup>-1</sup> )	2,50E+09	8,07E+08	1,81E+09
% Remoción de color	6,5	15,9	-

Volumen de CH<sub>4</sub> mL.



**Figura 13.** Diagramas de cajas volumen de CH<sub>4</sub> Fotofenton, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Solar y Control.

**Tabla 23. Valores diagrama de cajas volumen de CH<sub>4</sub>.**

VARIABLE	FOTOFENTON	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /SOLAR	CONTROL
Tamaño de muestra	42	42	42
Mediana	15,37	11,03	16,22
Des. estándar	8,448	4,986	8,250
Menor valor	5,66	3,33	3,82
Mayor valor	33,37	29,44	30,1
Primer cuartil	8,81	8,35	8,87
Tercer cuartil	25,49	13,74	23,12
Rango intercuartilico	16,68	5,39	14,25
outliers	none	none	none

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 22 y 23 y la Figura13 no se puede seleccionar un tratamiento como el que mejores condiciones presento para la producción de metano, ya que al compararlo con los resultados de reactor control tenemos datos muy similares y tal vez estas diferencias solo radiquen en problemas operacionales y errores experimentales.

## 10. CONCLUSIONES

- Se analizó la cantidad de metano generada con fotofenton. Este acople fue altamente sensible a los cambios de carga organica en la alimentación y a la acumulación de sustancias inhibidoras en el sistema para los sistemas fotofenton y  $H_2O_2$ /solar. A pesar que el sistema de tratamiento anaerobio fue de alta tasa, el tiempo de retención hidráulico fue muy corto para lograr toda la vía metanogénica. Esto limitó el tiempo de contacto entre las bacterias y el sustrato tanto para el sistema fotofenton-anaerobio y  $H_2O_2$ /solar-anaerobio. Bajo las condiciones de operación ensayadas en el sistema Fotofenton-Anaerobio, no se alcanzó un porcentaje favorable para el aprovechamiento de vinaza como biogás, dado que se requiere como mínimo una concentración de 60% de  $CH_4$ , y la alcanzada solo logró el 22.8%.
- 1.
- Se analizó la producción de biogás con  $H_2O_2$ /Solar y se encontró que no es un proceso que beneficie la producción de metano. Por el contrario fue el que mayor inhibición metanogénica tuvo en el tratamiento biológico. Al igual que el proceso con fotofenton, se encontró que el acople fue altamente sensible a los cambios de carga orgánica en la alimentación y a la acumulación de sustancias inhibidoras en el sistema. Bajo las condiciones de operación ensayadas en el sistema  $H_2O_2$ /solar no se alcanzó un porcentaje favorable para el aprovechamiento de vinaza como biogás, dado que se requiere como mínimo una concentración de 60% de  $CH_4$ , y la alcanzada solo logró el 17.5%.

- Dentro de los análisis de la tabla 25 y el diagrama de cajas se concluye que: “las diferencias entre ambos tratamientos y el reactor control no mostraron ser distintas para sugerir una valoración en un acople Fotofenton-Anaerobio o  $H_2O_2$ /solar-Anaerobio”.

## 11. RECOMENDACIONES

- Es importante tener en cuenta que el color en los sustratos son indicadores de presencia de materia orgánica de difícil degradación y por lo tanto el pretratamiento químico o biológico seleccionado deberá generar un cambio significativo al menos del 40% en el color, para mejorar la eficiencia del proceso de digestión anaerobia y aumentar la producción de biogás y metano.
- El seguimiento de compuestos recalcitrantes/tóxicos como fenoles, azúcares reductoras y melanoidinas debe hacerse a lo largo del proceso para identificar y corregir efectos adversos al proceso de digestión anaerobia.
- Teniendo en cuenta que la presencia de sulfato en la vinaza se promueve la actividad de las BSR, y cambia la dinámica del proceso de digestión anaerobia, se sugiere determinar el contenido de sulfato en la vinaza y establecer la relación  $\text{SO}_4^{2-}/\text{DQO}$ .
- Teniendo en cuenta que las características fisicoquímicas de vinaza son variables es necesario realizar un análisis elemental para identificar el nivel de biodegradabilidad que permita determinar las mejores condiciones para realizar el proceso de aprovechamiento biológico.
- Perspectivas futuras: Los resultados demuestran que si bien no hubo diferencias significativas en la producción de metano, la producción de AGVs puede tener usos interesantes.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

- Acharya, B.K., Mohana, S & Madamwar, D., 2008 Anaerobic Treatment of distillery spent wash – a study on upflow fixed film bioreactor. *Bioresouce technology*, 99, pp. 4621-4466.
- Agencia Andaluza de Energía. (2011). Estudio básico del biogás. In *Consejería de Economía Innovacion y ciencia*.
- Arce Sarria, A. (2012). *Evaluación Del Proceso Fotofenton Como Pretratamiento Para La Obtención De Biogas A Partir De Vinazas*.
- ASOCAÑA. (2010). Informe Anual 2009-2010, Asocaña, Cali.
- Baez-smith, C., & Consulting. (2006). Anaerobic Digestion of Vinasse for the Production Of Methane in the Sugar Cane Distillery, 268–287.
- Biomass Research Development Board. (2008). "National Biofuels action Plan."
- Blesa, M. A. (2001). Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea, (54), 1–12.
- Cabanes, J. M. L. (1989). DIGESTION ANAEROBIA DE LODOS DE DEPURADORA. ETAPAS CONTROLANTES Y CINETICA DEL PROCESO. *Tesis*.
- Caicedo Dueñas, N. C., & Muñoz Garzón, Y. K. (2010). *Estudio exploratorio del Tratamiento de Vinaza con Ozono*. Universidad del Valle.
- Caicedo, F. J. (2006). *Diseño, construccion y arranque de un reactor uasb piloto para el tratamiento de lixiviados*. Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales.
- CENICAÑA. (2009). El Estado del Etanol de Caña de Azucar en Colombia, CENICAÑA.
- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–64. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057
- Chernicharo, C. A. (2007). Principios do tratamento biológico de águas residuárias. Reactores anaeróbios, Universidade Federal de Minas Gerais., Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Brasil.
- Commission of the European Communities. (2005). "Biomass action Plan."
- CRC (1973). Handbook of Chemistry and Physics, 54th Edition (CRC Handbook of Chemistry & Physics). CRC Press, 54 edition 113.
- Covinich, L. G., Bengoechea, D. I., Fenoglio, R. J., & Area, M. C. (2014). Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment in the Pulp and Paper Industry: A Review, 4(3), 56–70. doi:10.5923/j.ajee.20140403.03



- Díaz-Báez, M. consuelo, Vargas, S. E. E., & Pérez, F. M. (2002). *Digestión Anaerobia, Una aproximación a la tecnología* (pp. 20–37).
- Duffey, A. (2010). Estudio regional sobre economía de los biocombustibles 2010 : temas clave para los países de América Latina y el Caribe, 1–100.
- Espinoza-Escalante, F. M., Pelayo-Ortiz, C., Navarro-Corona, J., González-García, Y., Bories, A., & Gutiérrez-Pulido, H. (2009). Anaerobic digestion of the vinasses from the fermentation of Agave tequilana Weber to tequila: The effect of pH, temperature and hydraulic retention time on the production of hydrogen and methane. *Biomass and Bioenergy*, 33(1), 14–20. doi:10.1016/j.biombioe.2008.04.006
- Fernandes, A. P. M. (2008). Tecnologías Utilizadas en el Tratamiento y Disposición de la Vinaza Introducción Objetivos Vinaza, 159–190.
- Flotats, X., Campos, E., Bonmatí, A. (1997). Aprovechamiento energético de residuos ganaderos, 27–29.
- García, A., & Rojas, C. A. (2006). Posibilidades de Uso de la Vinaza en la Agricultura de Acuerdo con su Modo de Acción en los Suelos, 3–13.
- García, L. A., & Ho, L. E. B. (2012). Evaluación De La Factibilidad De Acople De Un Sistema Fotocatalítico Biológico Para El Tratamiento De Vinazas Mediante Estudios De Toxicidad. *Eidenar Univalle*.
- Gil, J. J. (2012). *Evaluación de la Producción de Metano en la digestión anaerobia de vinazas pretratadas con un proceso de oxidación avanzada*.
- Gil Molano, J. J., Sanabria Gómez, I. J., & Baena, S. (2012). *Evaluación de la Producción de Metano en la Digestión Anaerobia de Vinazas Pretratadas con un Proceso de Oxidación Avanzada*. Universidad del Valle.
- Gómez, S. P. M. (2008). INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE VINAZA SOBRE LA PRESENCIA, ACTIVIDAD Y BIOMASA MICROBIANA DEL SUELO EN EL CULTIVO DE MAIZ MAIZ DULCE (Zea Mays).
- Gutierrez, H. M., Lozada, P. T., & Ho Barba, L. (2013). Guia metodologica para el análisis de lodos y sustrato en reactores anaerobios, 1–71.
- Haandel, A. C. van, & Lettinga, G. (1994). *Tratamiento Anaeróbico de Esgotos* (pp. 22–33).
- Hadavifar, M., Zinatadeh, A., Younesi, H., & Galehdar, M. (2010). Fenton and photo-Fenton treatment of distillery effluent and optimization of treatment conditions with response surface methodology. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 5, 454–464. doi:10.1002/apj
- Hansen, K. H., Angelidaki, I., & Ahring, B. K. (1998). ANAEROBIC DIGESTION OF SWINE MANURE INHIBITION BY AMMONIA.pdf, 32(1), 5–12.
- IDAE Instituto para la diversificación y ahorro de la Energía. (2007). *Biomasa y Digestores anaerobios*.
- Informe anual 2011 - 2012 • asocaña 1. (2012).

- Jiménez, a M., Borja, R., Martín, a, & Raposo, F. (2006). Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*. *Journal of Environmental Management*, 80(4), 303–10. doi:10.1016/j.jenvman.2005.09.011
- Kumar, V.; Wati, L.; Gibbon, F.; Nigan, P.; Banat, M.; Singh, D.; Marchant, R. Bioremediation and decolorization of anaerobically digested distillery spent wash, *Biotechnol. Lett.* 19 (1997) 311–313.
- Llavador, F. (2005). METABOLISMO BACTERIANO Y MODELIZACIÓN MATEMÁTICA Fernando Llavador Colomer.
- Loehr, R. C. (2012). *Agricultural Waste Management, Anaerobic Treatment* (pp. 316–334). doi:10.1016/B978-0-12-455250-0.50013-X
- Lutoslawski, K., Ryznar-Luty, A., Cibis, E., Krzywonos, M., & Miskiewicz, T. (2011). Biodegradation of beet molasses vinasse by a mixed culture of micro organisms: Effect of aeration conditions and pH control. *Journal of Environmental Sciences*, 23(11), 1823–1830. doi:10.1016/S1001-0742(10)60579-7
- Martin, M.A. 2002 Kinect study of the anaerobic digestion of vinasse pretreated with ozone, ozone plus ultraviolet light, and ozone ultraviolet light in the presence of titamuim dioxide. *process Biochimestry*, 37, pp 699-706.
- Mohana, S., Desai, C., & Madamwar, D. (2007). Biodegradation and decolourization of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium. *Bioresource Technology*, 98(2), 333–9. doi:10.1016/j.biortech.2005.12.024
- Moestedt, J., Nilsson Pålledal, S., & Schnürer, A. (2013). The effect of substrate and operational parameters on the abundance of sulphate-reducing bacteria in industrial anaerobic biogas digesters. *Bioresource Technology*, 132, 327–332. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.043
- Moestedt, J., Pålledal, S. N., Schnürer, A., & Nordell, E. (2013). Biogas production from thin stillage on an industrial scale-experience and optimisation. *Energies*, 6, 5642–5655. doi:10.3390/en6115642
- Mohana, S., Desai, C., & Madamwar, D. (2007). Biodegradation and decolourization of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium. *Bioresource Technology*, 98(2), 333–9. doi:10.1016/j.biortech.2005.12.024
- Ortega, N. 2006. Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process by Nuria Marti Ortega. 30
- Pandey, A. (2003). "Solid-state fermentation," *Biochem. Eng. J.* 13, 81-84.
- Parnaudeau, V. et al 2008. Viansse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes *bioresource technology*. 99(6). Pp 1553-62.
- Pérez, M., Romero, L. I., & Sales, D. (1999). Anaerobic thermophilic fluidized bed treatment of industrial wastewater: effect of F:M relationship. *Chemosphere*, 38(14), 3443–3461.
- Pérez, S. R., Savón, R. C. B., Giardina, P., & Fernández, B. M. (2005). Tratamiento Combinado (anaerobio-aerobio) para la Decoloración de la Vinaza de Destilería. *CENIC Ciencias Biológicas*, 36.

- Rafael Quintero D., Silvio F. Cadena S., C. O. B. B. (2006). Proyectos de investigación sobre uso y manejo de vinazas, 1–11.
- Romero, H. G. (2012). Evaluación de la política de Biocombustibles en Colombia.
- Sangave, P. C., & Pandit, A. B. (2006). Ultrasound and enzyme assisted biodegradation of distillery wastewater. *Journal of Environmental Management*, 80(1), 36–46. doi:10.1016/j.jenvman.2005.08.010
- Sanz, J. (2011). *Alternativas operacionales en tecnologías de oxidación avanzada para el tratamiento de efluentes de alta carga contaminante*.
- Sarria, A. A. (2012). EVALUACIÓN DEL PROCESO FOTOFENTON COMO PRETRATAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE BIOGAS A PARTIR DE VINAZAS., 1–51.
- Schnürer, A., Zellner, G., & Svensson, B. H. (1999). Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors. *FEMS Microbiology Ecology*, 29, 249–261. doi:10.1016/S0168-6496(99)00016-1
- Siles, J. a et al., 2011. Integrated ozonation and biomethanization treatments of vinasse derived from ethanol manufacturing journal of hazardous materials. 188(1-3). Pp. 247-253.
- Sirianuntapiboon, S., Phothilangka, P., & Ohmomo, S. (2004). Decolorization of molasses wastewater by a strain No.BP103 of acetogenic bacteria. *Bioresource Technology*, 92(1), 31–9.
- Tecnicaña. (2005). TECNICAÑA revista no. 17 volumen 9 diciembre de 2005., (17).
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). Respiración anaerobia (pp. 172–217).
- Van der Veen, A., Feroso, F. G., & Lens, P. N. L. (2007). Bonding from analysis of metals and sulfur fractionation in methanol-grown anaerobic granular sludge. *Engineering in Life Sciences*, 7, 480–489. doi:10.1002/elsc.200720208
- Wang, Q., Kuninobu, M., Ogawa, H. I., & Kato, Y. (1999). Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*, 16(6), 407–416. doi:10.1016/S0961-9534(99)00016-1
- Westerholm, M. (2012). Biogas Production through the Syntrophic Acetate-Oxidising Pathway, 1–70.
- Xu, Z., Zhao, M., Miao, H., Huang, Z., Gao, S., & Ruan, W. (2014). In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 163C, 186–192. doi:10.1016/j.biortech.2014.04.037

